

INTRODUCTION

Les tests *in vitro*, de sensibilité des germes aux antibiotiques sont une étape fondamentale, préalable à la mise en œuvre de toute antibiothérapie antistaphylococcique.

L'antibiothérapie empirique, cause majeure de l'émergence de souches résistantes représente aujourd'hui 40 à 50 % de l'antibiothérapie curative (63).

Staphylococcus aureus possède une grande capacité d'adaptation aux antibiotiques par la mise en jeu de mécanismes de résistance variés. Il est aujourd'hui admis que 80 à 90 % des souches de *Staphylococcus aureus* sont résistantes à la pénicilline G et que celles isolées en milieu hospitalier, responsables d'infections nosocomiales, se caractérisent par leur aptitude marquée à la multirésistance (36, 42).

Malgré l'augmentation d'infections dues aux staphylocoques à coagulase négative, notamment en milieu hospitalier, *Staphylococcus aureus* demeure l'espèce la plus redoutable du genre *Staphylococcus*. En effet le *Staphylococcus aureus* est une bactérie pyogène et toxigène dont la pathogénicité est déterminée par la production d'un grand nombre de facteurs de surface et d'exoprotéines (69). Les infections à *Staphylococcus aureus* sont la deuxième cause d'infections nosocomiales (65), en particulier ce germe est le premier agent responsable d'infections osseuses chez l'adulte (5). En plus certaines souches capables de produire une exotoxine sont responsables de toxi-infections alimentaires très souvent graves (22).

Devant une telle situation, les praticiens font de plus en plus appel à des antibiotiques jusqu'ici d'utilisation réservée avec tous les risques d'émergence de souches résistantes que cela peut engendrer

Nous nous sommes proposés dans cette étude de jauger le niveau de sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques anti-staphylococciques classiques, et de suivre l'émergence de souches résistantes aux glycopeptides par la technique du E-test®.

Ainsi la première partie de notre étude sera consacrée aux staphylocoques, aux antibiotiques, et aux techniques de détermination *in vitro* de la sensibilité.

Dans la deuxième partie nous évoquerons le matériel et les méthodes utilisés pour évaluer le niveau de sensibilité de 118 souches *Staphylococcus aureus*, exposerons

nos résultats et commentaires pour enfin les discuter selon les objectifs d'étude.

I. GENERALITES SUR LES STAPHYLOCOQUES

1.1- Historique

Les staphylocoques ont été découverts en 1880 par Louis PASTEUR. Ils doivent leur nom à OGSTON (1883) mais la distinction entre staphylocoque doré et staphylocoque blanc revient à ROSENBACH (1884).

En effet depuis leur découverte, les staphylocoques n'ont cessé d'occuper une place importante en pathologie. Il s'agit de bactéries très fréquemment retrouvées à l'état commensal sur la peau et les muqueuses de l'homme mais ils peuvent devenir de redoutables agents pathogènes.

1.2- Taxonomie

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae* qui dans l'édition du *Bergey's Manual* de 1986 comprend trois autres genres :

- *Micrococcus*
- *Planococcus*
- *Stomatococcus*

Cependant l'approche phylogénique qui a toujours servi de base à la taxonomie des germes est de plus en plus supplantée par de nouvelles techniques d'étude de la structure de la paroi notamment le peptidoglycane et les acides techoïques, de la membrane et surtout par des techniques génétiques (Hybridation de l'ADN, amplification génique, PCR...)

Le genre *Staphylococcus* se rapproche beaucoup plus du genre *Micrococcus* au sein de cette famille. Cependant un certain nombre de caractères différentiels doivent être retenus : (22)

Tableau I : Diagnostic différentiel des staphylocoques et des microcoques

Tests	Staphylocoques	Microcoques
Tests de sensibilités (a) :		
au lysozyme (50 µg)	-	+
à la lysostaphine (100 µg)	+	- (b)
au composé vibriostatique 0/129 (500 µg)	- (6-10 mm)	+ (20-26 mm)
à la nitrofurantoïne (300 µg)	+ (>15mm)	- (<15mm)
à la bacitracine (0.02 UI)	-	+ (10-25 mm)
croissance en anaérobiose (milieu au thioglycolate)	+ (c)	- (d)
acidification du glycérole à 1%	+ (c)	-(d)
présence d'acides techoïques dans la paroi	+	-
présence de glycine dans le pont peptidique du peptidoglycane	+	-
Cytochrome c oxydase	- (e)	+
hydrocarbures aliphatiques	-	+
présence de ménaquinones hydrogénées	-	+
fructose 1-6 diphosphate aldolase	classe I	classe II

(a) : sur gélose MH

(b) : quelques souches de *Micrococcus lustrus* sont sensibles à la lysostaphine

(c) : certaines espèces ne poussent pas en anaérobiose et / ou sont peu fermentaires

(d) : quelques souches de *Micrococcus varians* et *Micrococcus kistinae* peuvent pousser en anaérobiose et fermenter le glucose

(e) : *S. lentus* et *S. sciuri* produisent une cytochrome c oxydase

(+) : sensible

(-) : résistant

() : diamètre d'inhibition

Le genre *Staphylococcus* renferme 31 espèces qui peuvent être retrouvées chez l'homme et d'autres animaux (tableau II).

TABLEAU II : ESPECES ET VARIETES DE STAPHILOCOQUES RECONNUES

Espèces	Variétés	Hôte naturel
<i>S. aureus</i>	aureus	homme, mammifères, oiseaux
<i>S. aureus</i>	anaérobis	manitou
<i>S. épidermidis</i>		homme, animaux domestiques
<i>S. capitis</i>	capitis	homme
<i>S. capitis</i>	ureolyticus	homme, quelques primates
<i>S. caprae</i>		homme, chèvre
<i>S. saccharolyticus</i>		homme
<i>S. warneri</i>		homme, primates, animaux domestiques
<i>S. haemolyticus</i>		homme, primate, animaux domestiques
<i>S. hominis</i>		homme
<i>S. lugdunensis</i>		homme
<i>S. auricularis</i>		homme, primate
<i>S. cohnii</i>	cohnii	homme
<i>S. cohnii</i>	ureolyticum	homme, primate
<i>S. saprophyticus</i>		homme, mammifères
<i>S. xylosus</i>		homme, mammifères, oiseaux
<i>S. arlettae</i>		mammifères, oiseaux
<i>S. equorum</i>		chevaux, bestiaux
<i>S. kloosii</i>		mammifères
<i>S. gallinarum</i>		volaille, oiseaux
<i>S. muscae</i>		animaux domestiques
<i>S. felis</i>		chats
<i>S. simulans</i>		homme, mammifères
<i>S. carnosus</i>		viande et poisson
<i>S. piscifermentans</i>		poisson fermenté
<i>S. intermedius</i>		mammifères, oiseaux
<i>S. delphini</i>		dauphin
<i>S. schleiferi</i>	schleiferi	infections humaines
<i>S. schleiferi</i>	coagulans	chien
<i>S. hyicus</i>		chèvre, bestiaux, cochon
<i>S. chromogenes</i>		bestiaux, chevaux, chèvre
<i>S. caseolyticus</i>		bestiaux
<i>S. lentus</i>		animaux domestiques, dauphin
<i>S. vitulus</i>		viande, animaux domestiques
<i>S. sciuri</i>		mammifères, oiseaux

L'espèce type *Staphylococcus aureus* s'est adapté à plusieurs niches écologiques, ce qui d'après Hajek et Marsalek (28) a permis de décrire quatre biotypes chez différentes espèces animales.

Les caractères différentiels de ces différents biotypes sont donnés dans le tableau qui suit :

Caractères et Hôtes	Biotype A	B	C	D
fibrinolysine	+	-	-	-
pigment	+	+	+	d
coagulase (a):				
plasma humain	+	+	+	+
plasma bovin	-	-	+	-
hémolysine alpha	+	d	d	-
hémolysine bêta	d	d	+	+
sensibilité aux phages				
venant de souches	humain	humain	humain	humain
	bovin	bovin	bovin	
production de la protéine A	+	-	d	-
hôte dominant	humain	volaille porcin	bovin ovin	lièvre

LEGENDE:

+ = 90% ou plus de souches positives

- = 90% ou plus de souches négatives

d = résultats positifs chez 10 à 90% des souches

(a) = tous les biotypes de *S. aureus* coagulent le plasma de lapin

1.3- Habitat

Les staphylocoques sont très répandus dans la nature. Ils sont habituellement retrouvés dans le sol, les poussières, les eaux, et sur certains produits alimentaires comme les laitages. L'homme représente une des niches écologiques les plus importantes pour ces germes qui vivent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses.

Selon MOUNIER M. (47), la dissémination des deux principales espèces de staphylocoques au sein de la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme est donnée par le tableau ci-après :

Sites	Souches	% d'individus porteurs
peau	<i>S. epidermidis</i>	85 à 100%
	<i>S. aureus</i>	5 à 25%
nez	<i>S. epidermidis</i>	90%
	<i>S. aureus</i>	20 à 85%
bouche	<i>S. epidermidis</i>	75 à 100%
	<i>S. aureus</i>	75 à 100%
oropharynx	<i>S. epermidis</i>	30 à 70%
	<i>S. aureus</i>	35 à 40%
selles	<i>S. aureus</i>	30 à 50%

1.4- Caractères morphologiques

Dans le pus, *Staphylococcus aureus* se présente sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes (3 à 5 éléments), mesurant de 0,8 à 1µm (22).

Sur les cultures en milieu solide, il donne l'aspect en "grappes de raisin" alors qu'en milieu liquide l'aspect en diplocoque ou isolé domine (6, 22).

C'est un germe immobile, asporulé et inconstamment capsulé.
S. aureus est un germe à Gram (+).

1.5- Caractères cultureux

Staphylococcus aureus peut se développer sur les milieux usuels avec notamment une grande variation de pH et de température de 10 à 45°C (6, 22).

C'est un germe aéro-anaérobie facultatif le plus souvent cultivé en aérobiose.

Les facteurs indispensables à son développement sont :

- l'acide nicotinique
- la vitamine B1

La température et le pH de croissance optimale sont respectivement de 37°C et 7,5 (22).

En milieu liquide, la culture est rapide et se traduit par l'apparition d'un bouillon trouble en quelques heures. Sur milieu gélosé, les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées avec un diamètre de 1 µm (22).

La plupart des souches produisent un pigment doré sur milieu gélosé.

Cette production nécessite la présence d'oxygène, de gaz carbonique et de calcium à une température légèrement inférieure à la température optimale de croissance. L'isolement de *Staphylococcus aureus* à partir d'un produit pathologique peut nécessiter l'utilisation de plusieurs milieux parmi lesquels :

- des milieux d'enrichissement
 - * milieu liquide de CHAPMAN
 - * milieu de ZEBOVITZ
- des milieux d'isolement sélectifs
 - * milieu de CHAPMAN
 - * milieu de BAIRD-PARKER
 - * milieu de VOGEL-JOHNSON
- des milieux d'identification

Ces milieux exploitent les propriétés biochimiques et métaboliques des staphylocoques.

A 4°C les staphylocoques conservent leur vitalité pendant trois mois dans le pus, pendant un an sur gélose.

Le staphylocoque doré est détruit à 58°C au bout de 60 min.. Les colonies de staphylocoques peuvent subir des variations S/R et des colonies naines dépourvues de coagulase, de catalase et d'hémolysine peuvent être obtenues, lorsque la croissance a lieu en présence de certains sels minéraux (chlorure de lithium ou de baryum), de colorants (violet de gentiane, acridine) ou d'antibiotiques (méthicilline, aminosides).

Ces colonies retrouvent leur morphologie normale par subculture (22).

1.6- Structures antigéniques

1.6.1- Antigènes structuraux d'espèce (6, 22)

← Le peptidoglycane

Il est formé de chaînes linéaires de N- acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique réunies par des liaisons Beta1-4 et Beta1-6. Sur l'acide N-acétylmuramique se fixe un térapeptide ; des ponts penta ou hexaglycine unissent

la lysine d'un tétrapeptide à l'alanine du suivant (22).

Il existe trois déterminants antigéniques :

- La chaîne polysaccharidique
- Le tétrapeptide
- le pont interpeptidique

Le peptidoglycane peut entraîner sur l'organisme des effets tels que fièvre, activation du complément et du chimiotactisme, thrombocytopénie et dermonécrose (6).

↑ L'acide ribitol téchoïque

C'est un polymère linéaire de ribitol dont les chaînes sont unies par des liaisons phosphodiester et substituées selon les cas par de la N- acétylgalactosamine. L'acide ribitol téchoïque est également reconnu chez deux autres espèces telles que *S. xylosus* et *S. saprophyticus*. C'est la fixation des acides téchoïques qui explique la forte électronégativité de la surface cellulaire.

Des acides lipotéchoïques ont été identifiés chez *S. aureus*. Il s'agit d'acides glycérol-téchoïques liés à un glycopeptide situé sur des vésicules mésosomales. L'acide ribitol téchoïque est peu toxique, il induit la formation d'anticorps dont le dosage sérique peut être utilisé pour le diagnostic.

→ La protéine A

C'est une holoprotéine (MM 42KDa, pI 5,1) caractéristique de l'espèce *S. aureus*. 90% des souches d'origine humaine (biotype A) la produisent. Il y aurait 80 milles sites de protéine A sur un staphylocoque mais les souches méthi-R en seraient moins pourvues. La protéine A se fixe sur le fragment Fc des immunoglobulines G des sous classes G1, G2, G3 des sérums humains normaux (6, 22). Le gène de la protéine A a été cloné dans des bactéries comme *Escherichia coli* et dans des plasmides de *S. aureus* et la séquence nucléotidique a été déterminée (9). La protéine A est utilisée pour la préparation de bioréactifs notamment pour diminuer le taux d'immuns complexes circulants.

1.6.2- Antigènes spécifiques de type

La paroi de *S. aureus* contient de nombreux antigènes spécifiques de type dont la mise en évidence est utilisée en épidémiologie (sérotypie) (6). La nature chimique de quatre d'entre eux est connue (26, 27, 51, 52) :

- l'antigène n contient du glycérol, galactose, glucose, mannose, et xylose, de la glycine, alanine, proline, valine, glutamine, leucine et lysine.
- l'antigène h1 est une protéine de 95 KDa
- l'antigène a5 est un acide téchoïque sérologiquement différent de l'acide Béta-N-acétylglucosaminy-ribitol téchoïque ;
- l'antigène h2 est un acide téchoïque contenant du ribitol, riche en alanine et en N-acétylglucosamine sérologiquement distinct de l'acide lipotéchoïque.

1.6.3- Antigènes de surface

← La capsule

Les souches de *S. aureus* sont inconstamment capsulées. Par réaction d'immunofluorescence il est possible de mettre en évidence des antigènes capsulaires chez 80% des souches cliniques (22). Les capsules sont constituées d'acides uromiques de divers types, acétylés ou aminés. Les souches capsulées sont plus virulentes pour la souris et résistent mieux à la phagocytose.

↑ Le "slime"

Il s'agit d'une substance polysaccharidique visqueuse amorphe qui entoure la bactérie et lui confère des propriétés d'adhésion sur des surfaces extérieures (6, 22). Le "slime" est produit dans des conditions particulières de culture (notamment sur du matériel plastique).

1.7- Substances élaborées

1.7.1 Les Toxines protéiques

← Les hémolysines ou staphylolysines

Quatre hémolysines ont été isolées jusqu'ici de souches de *S. aureus* (6, 22). Elles possèdent toutes une activité hémolytique qui s'exerce sur l'homme et sur différents animaux.

- **Alpha hémolysine** : elle est produite par 80 à 90 % des souches (6, 22). C'est une protéine de 33 KDa et de point isoélectrique 8,55. Elle est inactivée à 60°C et réactivée à 100°C. Elle provoque une hémolyse sur les hématies de lapin à 37°C. L'alpha hémolysine provoque une contraction du muscle lisse, une libération d'histamine et des troubles circulatoires. Les anticorps qu'elle induit (les antistaphylolysines alpha) sont utilisés pour le sérodiagnostic.

- **Béta hémolysine** : elle est souvent fabriquée par les souches animales (94 %) et par les souches humaines (54 %). C'est une phospholipase de type C active sur la sphingomyéline. Ce qui explique son activité hémolytique marquée sur les hématies de moutons qui en sont très riches.
- **Gamma toxine ou gamma hémolysine** : elle est sécrétée par 50 à 60 % des souches. Elle est formée de deux constituants :
 - I 29 Kda
 - II 26 KDa
 Elle est active sur les hématies de lapins, de moutons et d'hommes chez lequel il est antigénique.
- **Delta hémolysine** : c'est une protéine thermostable, hydrophobe et faiblement antigénique. Elle a une masse moléculaire de 103 KDa. Elle exerce une activité très rapide de type détergente sur les hématies de lapins, cheval, homme, cobaye, les macrophages et les granulocytes. Elle est inhibée par le sérum sanguin, le fibrinogène, les globulines sériques (alpha et béta) et les phospholipides.

↑ La Leucocidine de Pantan et Valentine

Elle est produite par 2 % des souches (14). Elle comporte un composant F (32 KDa) et un composant S (38 KDa) agissant en synergie. Elle est toxique pour les granulocytes, les macrophages et les basophiles (6, 22).

→ L'exfoliatine ou épidermolysine

Il en existe deux :

- exfoliatine A (26,9 KDa) thermostable et d'origine chromosomique.
- exfoliatine B (27,3 KDa) thermostable et d'origine plasmidique

Leur tropisme cutané et leur action pathogène sont indiscutables. Elles sont en particulier responsables du "syndrome de la peau ébouillantée".

↓ Les entérotoxines

Elles sont au nombre de 7 (A, B, C1, C2, C3, D et E) et se différencient par leurs caractères antigéniques. Elles sont produites par certaines souches ; un peu plus de la moitié (22). Elles résistent aux enzymes protéolytiques du tube digestif. Lorsqu'elles sont sécrétées dans un aliment contaminé, elles sont à la base d'intoxications alimentaires très graves. L'entérocolite aiguë pseudomembraneuse post antibiotique est également une affection fréquente due aux

entérotoxines.

° Toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique

Elle est produite par 95 % des souches isolées du vagin lors de syndrome de choc toxique staphylococcique. Elle est d'origine chromosomique et de masse moléculaire 2 KDa.. Elle est produite par des souches du groupe phagique I qui sont fortement protéolytiques, peu ou pas hémolytiques, résistantes à la pénicilline G, au cadmium et à l'arséniate. C'est un mitogène non spécifique des lymphocytes T humains ; elle induit la production d'interleukine1 (6).

1.7.2 Les Enzymes

← La coagulase libre

S. aureus fabrique une exoenzyme capable de coaguler en quelques heures le plasma humain ou celui de lapin citraté, hépariné ou oxalaté (6, 31). C'est une protéine de MM variable selon les souches (31 à 58 KDa). Elle est produite par d'autres espèces de staphylocoques notamment :

- *S. intermedius*
- *S. hyicus*
- *S. delphinii*

Son rôle pathogène est double ; elle englobe les cocci dans un réseau fibrineux et les protège ainsi de la phagocytose. Elle est à l'origine de thrombophlébites suppurées (6, 22). Des causes d'erreur doivent être connues lors des tests de recherche de cette staphylocoagulation. Elles sont dues à des métalloprotéases capables de provoquer une coagulation du plasma (22).

↑ La coagulase liée ou Clumping factor

Il s'agit d'une substance protéique, constituant de la paroi et qui diffuse dans le milieu après autolyse. Elle est également produite par des espèces comme *S. lugdunensis*, *S. schleiferi* et certaines souches de *S. intermedius*. Le Clumping factor est capable de fixer directement le fibrinogène et d'entraîner l'agglutination des staphylocoques.

→ La fibrinolysine ou staphylokinase

Cet enzyme active le plasminogène en plasmine (6, 22), contribue à la dislocation du caillot et à la formation de micro-embols bactériens responsables de métastases septiques (6). Elle peut être d'origine chromosomique ou phagique.

↓ Les lipases

Il est possible de les mettre en évidence sur des milieux contenant du jaune d'œuf et sur des Tweens.

° Les phosphatases

Elles sont localisées sur la membrane ou sur l'acide téichoïque. Ce sont des phosphatases acide et alcaline.

± Hyaluronidase

C'est une enzyme thermolabile (80 KDa) agissant à pH acide et hydrolysant l'acide hyaluronique. Son rôle pathogène est de favoriser la diffusion du staphylocoque dans le tissu conjonctif (22).

" La nucléase

C'est une désoxyribonucléase ayant une activité ribonucléasique. Elle agit à pH alcalin en présence de calcium. L'enzyme thermolabile est produite par les différentes espèces du genre *Staphylococcus* alors que la forme thermostable est produite par toutes les souches de *S. aureus* et par 5 % des souches de staphylocoques à coagulase négative en particulier *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi* (22).

≥ Les proteases

Trois types de protéases sont connues :

- La sérine-protéase
- La métalloprotéase
- la thiolprotéase

× Le lysozyme

Il s'agit d'une endo Béta-N acétylglucosaminidase capable de lyser la paroi des cellules bactériennes.

1.8 Caractères génétiques (22)

1.8.1 Chromosome de *S. aureus*

Ce chromosome est encore mal connu (61). Chez les souches productrices de pénicillinase, le rapport de l'ADN plasmidique à l'ADN chromosomique est de 10 à 20%.

1.8.2 Mutants staphylococciques

Il est possible de sélectionner plusieurs mutants staphylococciques. Certains d'entre eux vont perdre des caractères biochimiques et métaboliques quelque fois importants pour la virulence et d'autres vont résister aux antibiotiques.

1.8.3 Plasmides des staphylocoques

Les caractères phénotypiques les mieux connus codés par ces plasmides sont des caractères de résistance aux antibiotiques.

1.8.4 Les bactériophages

Ils sont utilisés pour la caractérisation épidémiologique, ils confèrent aux staphylocoques un caractère lysogénique.

1.8.5 Les transposons

Plusieurs transposons ont été décrits chez *S. aureus*. Leur insertion au chromosome bactérien se traduit le plus souvent par la synthèse d'éléments de résistance aux antibiotiques.

1.8.6 Echanges génétiques

← La transduction

Elle est le plus souvent de type généralisé et concerne les gènes plasmidiques ou chromosomiques.

↑ La transformation

La souche réceptrice doit nécessairement posséder le phage P11 indispensable à l'état de compétence. En raison de la taille importante des fragments d'ADN transférés, la

transformation est un bon moyen d'étude de la génétique des staphylocoques.

→ La conjugaison

Elle peut intéresser aussi bien les gènes plasmidiques que les gènes chromosomiques. Des transferts de matériels génétiques ont été obtenus d'une part entre staphylocoques et *Streptococcus pneumoniae* ou *Enterococcus faecalis* d'autre part.

Des plasmides de résistance ont été transférés entre *S. epidermidis* et *S. aureus* avec comme conséquence la résistance à la gentamicine.

1.9- Diagnostic au laboratoire d'une infection à *S. aureus*

1.9-1- Diagnostic bactériologique

- **prélèvement** : le prélèvement doit être effectué dans des conditions rigoureuses d'aseptie pour éviter la contamination des souches commensales. Notamment le prélèvement de pus doit être effectué avant rupture de la peau.
- **examen microscopique** : Il fait suite à un bref examen macroscopique et comporte deux étapes :
 - un examen à l'état frais qui ramène des bactéries de formes rondes et immobiles
 - un examen après coloration de Gram qui montre des cocci à Gram (+) isolés, groupés en amas ou en courtes chaînettes.
- **mis en culture** : elle peut se faire sur milieu ordinaire, enrichi (gélose MH) ou sur gélose au sang. Les milieux sélectifs comme le milieu de Chapman sont à utiliser avec des produits pathologiques polymicrobiens. Certains mutants ne poussent qu'en présence de CO₂, de vitamines du groupe K ou d'acides aminés particuliers (tryptophane).
- **Identification** : *S. aureus* est identifié par sa morphologie cocci à Gram (+), sa catalase (+), DNase (+) et coagulase libre (+). Plusieurs types de galeries disponibles sur le marché peuvent être utilisées mais NDAO S. K. (50) suggère d'utiliser les microméthodes d'identification qui se caractérisent par leur fiabilité et leur compétitivité. L'étude antigénique peut éventuellement compléter l'identification dans un but épidémiologique.
- **Antibiogramme** : toute souche isolée de *S. aureus* doit faire l'objet d'un antibiogramme. La recherche de la production de pénicillinase et de la résistance à la méthicilline sont indispensables.

1.9-2- Diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique peut être effectué lorsque la culture est négative en particulier lors des staphylococcies profondes ostéoarticulaires (6, 22, 59).

Deux types d'anticorps sont fréquemment dosés :

* les antistaphylolysines

. antistaphylolysines alpha dont le titre est supérieur ou égal à 2 UI/ml

. antistaphylolysines gamma dont le taux significatif est supérieur à la dilution 1/160 du sérum

* les anticorps antiacides téchoïques

Le taux est normalement inférieur à 4 (59) et devient significatif d'une infection récente à partir de 8.

1.10- Infections à staphylocoques (59)

1.10-1- Staphylococcies cutanéomuqueuses

Elles représentent l'expression la plus courante des infections à staphylocoques et débutent à la faveur d'une excoriation.

← Staphylococcies épidermiques

- l'impétigo : c'est une dermatose bulleuse très contagieuse. Elle se caractérise par son aspect pustuleux. Le dessèchement laisse place à une croûte jaunâtre.
- onyxis et périonyxis : c'est une affection chronique de l'ongle et du bourrelé périunguéal.
- la tournide : c'est un panaris développé dans l'épiderme périunguéal.

↑ Staphylococcies du follicule pilosébacé

- la folliculite aiguë superficielle : c'est une inflammation d'un follicule pileux localisée à l'orifice de ce dernier.
- la folliculite aiguë profonde : Il s'agit d'un abcès intrafolliculaire qui peut aboutir à la nécrose de tout l'appareil pilosébacé. Elle peut se présenter sous forme d'orgelet ou de furoncle.

→ Staphylococcies du tissu cellulaire sous cutané

Elles se présentent sous forme d'abcès, de cellulite, de phlémons. L'inoculation accidentelle du tissu sous cutané est la cause souvent fréquente de

panaris.

↓ Staphylococcies des canaux glandulaires

Il s'agit de dermo-hypodermes nodulaires consécutives à une suppuration chronique des glandes apocrines de l'aisselle et du périnée.

° Staphylococcies cutanées récidivantes

Elles surviennent sur des terrains prédisposés (diabète, malnutrition...). Elles sont favorisées par la macération et par un défaut d'hygiène.

± Staphylococcies cutanées du nouveau-né et du nourrisson

Ces affections sont très fréquentes aux premiers âges de la vie. Deux aspects particuliers peuvent être retenus :

- pemphigus épidermique : c'est une dermatose bulleuse très contagieuse autoinductible.
- panniculite aiguë nécrosante : elle est d'évolution très sévère.

" Staphylococcies des muqueuses

Les staphylocoques peuvent en être l'origine en association avec d'autres microorganismes des flores locales. Il peut s'agir de phlégon de l'amygdale, de sinusites, d'otites chez les nouveaux-nés, de laryngites sous glottites.

1.10.2 Septicémies à staphylocoques

Le passage de staphylocoques dans le sang à partir d'un foyer primaire compliqué de thrombophlébite locale est un accident toujours grave en raison de la grande fréquence des métastases septiques polyviscérales et du risque toujours possible de survenue d'un choc septique. Elles peuvent être d'origine cutanée, dentaire, urinaire, utérine. Elles peuvent également provenir de la sphère ORL ou être d'origine iatrogène. On peut distinguer :

- des formes aiguës fulminantes
- des staphylococcies malignes de la face : elles sont consécutives à un furoncle ou à un anthrax de la lèvre supérieure traumatisée par des manœuvres intempestives.

1.10.3 Staphylococcies neuroméningées

Elles sont dominées par l'abcès du cerveau développé à partir d'un foyer ORL suppuré.

1.10.4 Les myosites staphylococciques

Elles se présentent sous forme d'abcès unique ou multiples dans les loges musculaires des membres, des fesses. Le traitement est chirurgical.

1.10.5 Staphylococcies non suppuratives (toxiniques)

← Syndrome des enfants ébouillantés.

Quatre syndromes cutanés ayant en commun une exfoliation plus ou moins étendue sont dues à une exotoxine exfoliante (exfoliatine ou épidermolysine). Ces syndromes s'observent habituellement chez le nourrisson et chez l'enfant, exceptionnellement chez l'adulte immunodéprimé.

- Syndromes scarlatins staphylococciques
- Impétigo bulleux : c'est une dermatose bulleuse siégeant sur les membres.
- Syndrome de nécrolyse épidermique (syndrome de LYELL staphylococcique)
- Erythrodermie bulleuse du nourrisson : les enfants ébouillantés doivent être strictement isolés et hospitalisés. Une antibiothérapie antistaphylococcique doit être administrée afin de prévenir les surinfections.
- Dermatite exfoliatrice du nouveau né (maladie de RITTER VON RITTERSHEIN). Le risque de thrombophlébite du sinus caverneux est important avec ophtalmoplégie et manifestation méningo-encéphalique.
- Endocardite staphylococcique : c'est une forme redoutable car très souvent létale.

1.10.6 Localisation viscérale des staphylococcies

← Staphylococcies ostéo-articulaires

Les causes sont généralement dues à la traumatologie, à la chirurgie orthopédique ou à la sollicitation directe de certaines articulations lors d'arthroscopie ou de traitement par infiltration.

↑ Staphylococcies pleuropulmonaires

Celle du nourrisson est rare mais redoutable avec une altération de l'état général et une déshydratation intense.

→ Staphylococcies urogénitales

Il peut s'agir :

- d'une pyélonéphrite aiguë fréquente en particulier chez le diabétique.
- de l'abcès du rein compliquant une bactériémie ayant comme point de départ un furoncle ou un panaris.
- de phlegmon périnéphrotique conséquence de la rupture dans l'atmosphère périnéale d'un abcès cortical.
- d'abcès de la prostate qui est une complication fréquente des staphylococcémies.
- d'épididymite staphylococcique etc....

1.10.7 Syndrome de choc toxique staphylococcique

Ce syndrome a été décrit chez l'enfant en 1978 par TODD. Il connaît depuis 1980 une flambée épidémique chez les femmes en période menstruelle utilisant des tampons périodiques. La forme complète comporte une fièvre en plateau, supérieure à 39°C et une hypotension pouvant aller jusqu'à l'état de choc.

1.10.8 Entérocolites staphylococciques

← Toxi-infections alimentaires à staphylocoques

Elles sont consécutives à la présence d'entérotoxines thermostables de certaines *S. aureus* préformées dans l'aliment.

↑ Entérocolite staphylococcique postantibiotique

Il succède à une antibiothérapie à large spectre et réalise un syndrome entérique avec :

- . fièvre
- . diarrhée acqueuse et afécale contenant de fausses membranes

1.11. Physiopathologie

L'aptitude pathogène d'un staphylocoque dépend de nombreux facteurs de virulence (exoenzymes, facteurs d'attachement, activité métabolique et vitesse de multiplication). Les facteurs d'adhérence apparaissent comme une étape précoce importante des infections à *S. aureus* notamment dans l'endocardite (23). Les premiers signes inflammatoires observés au niveau de la porte d'entrée font suite à

des phénomènes suppuratifs et nécrotiques. Il s'ensuit une thromphlébite point de départ d'une septicémie avec embols septiques.

1.12. Immunité (6, 22)

La fréquence de portage sain chez l'homme implique l'existence d'une immunité naturelle efficace. L'immunité cellulaire est la plus importante tandis que celle humorale joue un rôle plus discret sauf vis à vis de certaines toxines (exfoliatine, entérotoxine,...).

1.13. Epidémiologie (6, 22)

Le réservoir essentiel de *S. aureus* est l'homme lui-même. La transmission directe se fait à partir du réservoir en particulier à partir des lésions staphylococciques ouvertes, telles que les infections cutanées ou muqueuses (rhinopharyngites, sinusites).

La transmission indirecte est fréquente en milieu hospitalier notamment à partir des vêtements, de la literie, du matériel médical, de la poussière, de l'air.

1.14- Antibiotiques antistaphylococciques

Dans la plupart des familles d'antibiotiques, il existe des produits qui ont une activité antistaphylococcique. Cependant, le traitement médical des staphylococcies a toujours été dominé par l'existence de souches présentant un niveau de résistance élevé.

1.14.1- Sensibilité des staphylocoques

Trois familles d'antibiotiques sont qualifiées de majeures :

- **Les Bétalactamines** : La pénicilline G conserve une très bonne activité sur les souches non productrices de pénicillinase (moins de 10% des souches) (6, 59). Les aminopénicillines sont moins actifs. La méthicilline et les dérivés isoxazolés (oxacilline et produits voisins) sont moins actifs que la pénicilline G, mais sur les souches productrices de pénicillinases, elles sont très actives (22), avec cependant 10 à 20% de souches résistantes (6). Parmi les céphalosporines, la céfalotine, la céfazoline et la céfamandole ont une meilleure activité (22, 59).
- **Les Aminosides** : les aminosides sont bactériostatiques et bactéricides. La gentamicine est un peu plus efficace que la tobramycine, l'amikacine et la

nétilmicine (6, 22, 59). Il faut noter de nombreuses résistances chez les souches Méthi-R.

- **Macrolides et apparentés** : L'érythromycine premier représentant de cette famille a une activité bactériostatique et bactéricide à forte concentration. Il en est de même pour les lincosamines (lincomycine, clindamycine) et le constituant B des synergistines. Ces derniers sont doués d'une forte activité bactéricide en raison de synergie observée entre leurs deux constituants A et B (22).
- **Antistaphylococciques divers** : Il s'agit d'antibiotiques réservés aux souches Méthi-R (Vancomycine) ou alors utilisés en association notamment avec les aminosides pour éviter la sélection de souches résistantes (Rifampicine, fosfomycine). Des antibiotiques comme l'acide fusidique, la teicoplanine, la péfloxacin, l'ofloxacine, la ciprofloxacine et le cotrimoxazole peuvent également être utilisés.

1.14.2- Résistance des staphylocoques (22).

Les staphylocoques sont aujourd'hui connus pour leur résistance à la pénicilline G par un mécanisme de production de pénicillinase. La résistance à la méthicilline apparue en 1961 (9) doit obligatoirement être recherchée avant toute antibiothérapie antistaphylococcique. La prévalence varie selon les pays et selon le milieu en particulier hospitalier. Elle se situe autour de 10 à 20% (6, 22). Les souches Méthi-R sont souvent résistantes aux autres antibiotiques (aminosides, macrolides, sulfamides). La majorité des souches (90%) présentent une résistance aux macrolides de type MLS_B ; 10% des souches ont une résistance de type inducible.

La résistance aux aminosides est variable. La résistance de type plasmidique au phénotype GKT (gentamicine, sisomicine, kanamycine, tobramycine) est la plus fréquente. Les tétracyclines sont actives sur 90% des souches. L'association triméthoprime-sulfamides est inactive sur 17% des souches.

Les antibiotiques restants actifs sur les souches Méthi-R sont peu nombreux. La vancomycine et la teicoplanine sont actives sur les souches malgré une tendance plus marquée de résistance à la teicoplanine (4).

Les souches résistantes à la rifampicine sont rares, 5% environ (22).

II NOTIONS GENERALES SUR LES DIFFERENTES FAMILLES D'ANTIBIOTIQUES

2.1- Historique

La découverte des antibiotiques sensu stricto a débuté avec celle de la pénicilline en 1929 par le bactériologiste Anglais SIR ALEXANDER FLEMING. Le mérite de la découverte des antibiomimétiques revient à l'allemand PAUL EHRLICH (1905) qui a eu à travailler pour la première fois sur les colorants azoïques. C'est sur la base des travaux de EHRLICH que DOMAGK découvrit le surfanilamide dont la première utilisation remonte à 1936 (25).

C'est une équipe de chercheurs de l'université d'Oxford dirigé par FLOREY qui permit la première utilisation de la pénicilline en 1940. La streptomycine première représentante des aminosides sera découverte par WAKSMAN en 1944 de *Streptomyces griseus*.

Le chloramphénicol premier antibiotique à très large spectre fut découvert en 1947 à partir de *Streptomyces venezualae*. La chlortétracycline fut isolée de *Streptomyces aureofaciens* en 1948.

2.2) Définition

Les agents antimicrobiens sont généralement divisés en deux groupes.

- les antibiotiques
- les antibiomimétiques

En plus de leur utilisation in vivo, un troisième groupe uniquement utilisé in vitro peut y être ajouté : les antiseptiques.

Définition d'un antibiotique : un antibiotique est un composé isolé d'un organisme vivant et qui peut inhiber le développement d'autres microorganismes ou alors les détruire. Les antibiotiques peuvent être doués d'activités antibactérienne, antimycosique, antivirale, antiparasitaire ou même anticancéreuse (25).

Définition d'un antibiomimétique : un antibiomimétique est un produit de synthèse partielle ou totale possédant les mêmes propriétés thérapeutiques que les antibiotiques.

Définition d'un antiseptique : les antiseptiques sont des produits chimiques trop toxiques pour être utilisés in vivo. Ce sont des désinfectants utilisés in vitro.

2.3- Sources d'antibiotiques

Les antibiotiques proviennent de trois sources majeures :

- les moisissures ou champignons
- les bactéries
- la synthèse partielle ou totale

Les espèces de *Pénicillium* et de *Streptomyces* représentent les plus importantes sources d'antibiotiques utilisées en thérapeutique. Chez les bactéries, les *Bacillus* produisent la plupart des antibiotiques usuels. La synthèse a permis d'obtenir un lot important d'agents antimicrobiens comme les sulfamides.

2.4- Caractéristiques des antibiotiques

Les antibiotiques sont caractérisés par un certain nombre de propriétés qui les différencient des antiseptiques et des désinfectants. Parmi ces propriétés on peut noter :

- **la toxicité sélective** : il s'agit de la propriété la plus importante d'un antibiotique (17, 34). Cette toxicité sélective est liée à leur mécanisme d'action qui diffère selon le site d'action ou la cible moléculaire à atteindre.
- **effet antibiotique à faible dose** : les faibles doses administrées contribuent à mieux les tolérer par l'organisme.
- **effet relativement lent** : en effet il dépend des propriétés pharmacocinétiques de l'antibiotique. Cet effet nécessite souvent quelques heures.
- **effet bactériostatique ou bactéricide** : l'effet bactériostatique ou bactéricide dépend de la concentration et du temps de contact d'où les notions d'antibiotiques concentration dépendante et temps dépendant.

D'autre part les antibiotiques doivent être choisis en thérapeutique pour les propriétés suivantes (9).

- ◆ . un spectre élargi permettant de détruire ou d'inhiber différentes espèces de bactéries pathogènes ;
- ◆ . absence de toxicité pour l'organisme et minimum d'effets secondaires ;
- ◆ . absence d'allergie ;
- ◆ . conserver la flore bactérienne normale de l'organisme ;
- ◆ . concentration importante au niveau du site d'action ;
- ◆ . facilité de production et coût abordable ;
- ◆ . stabilité chimique ;

- ♦ . faire l'objet de moins de résistance.

2.5- Classification des antibiotiques

La classification repose sur leur structure chimique et leur mécanisme d'action, lesquels conditionnent leur spectre d'activité (17, 34). Nous insisterons ici sur la classification basée sur le mécanisme d'action.

2.5.1- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane

Le peptidoglycane (muréine ou mucopeptide) est un constituant essentiel de la paroi des bactéries. Il lui confère une rigidité ou une résistance physique lui permettant de faire face aux différentes agressions. C'est un hétéropolymère dont la composition est la suivante : (6, 17) :

- chaînes polysaccharidiques faites d'une alternance de N-acétyl-glucosamine et d'acide N-acétyl-muramique.

- chaînes tétrapéptidiques (contenant de la L-alanine, D-alanine, acide D-glutamique et de la L-lysine ou de l'acide diaminopimélique) branchés sur l'acide N-acétyl muramique.

- **La fosfomycine** : il s'agit de l'acide cis-1,2 époxypropylphosphanique synthétisé par *Streptomyces fradiae* (6). La fosfomycine inhibe la pyruvyl transférase par conséquent la combinaison du phosphoenol-pyruvate avec l'UDP-Nacétyl glucosamine (6).
- **La D-cyclosérine** : c'est un antibiotique toxique réservé au traitement de certains cas de tuberculoses (17, 34). Elle inhibe de façon compétitive l'alanine racemase et la D-alanyl-D-alanyl synthetase empêchant ainsi la formation de l'UDP N-acétyl muramylpentapeptide.
- **La bacitracine** : c'est un antibiotique polypeptidique synthétisé par *Bacillus licheniformis* (17, 34). Elle est uniquement active sur les bactéries Gram (+). Elle se combine au lipide transporteur des nucléotides précurseurs de la synthèse du peptidoglycane (17, 6).
- **La vancomycine** : elle est produite par *Streptomyces orientalis*. Elle forme un complexe avec l'extrémité D-ala-D-ala du N-acétyl muramyl pentapeptide empêchant la fixation de ce dernier sur la chaîne de peptidoglycane en formation.
- **Ristocétine et teicoplanine** : elles sont très proches de la vancomycine.

➤ **Les bétalactamines** : c'est une famille très prolifique d'antibiotiques dont le premier représentant la pénicilline G est à la base de l'antibiothérapie. La structure du noyau de base comporte toujours le cycle bétalactame. Les antibiotiques appartenant à cette famille sont répartis en trois groupes :

- pénams-carbapénams-oxapénams
- céphems-oxacéphems
- monobactams

Les bétalactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane notamment la transpeptidation par analogie structurale avec le dipeptide D-ala-D-ala (34). Les cibles des bétalactamines sont des protéines insérées sur la face externe de la membrane cytoplasmique. Leur nombre varie selon l'espèce bactérienne (4 chez *S. aureus*). Les bétalactamines ont habituellement un effet bactéricide qui résulte sauf exception d'une lyse bactérienne consécutive à l'activation des enzymes autolytiques de la bactérie (6).

2.5.2- Antibiotiques actifs sur les membranes

Il peut s'agir de la membrane externe de la paroi des bactéries à Gram (-) ou de la membrane cytoplasmique des bactéries à Gram (+). Ces antibiotiques désorganisent la membrane en se combinant avec notamment les phospholipides qui les constituent. Il s'agit :

- * des polymyxines
 - . polymyxine B
 - . polymyxine E (colistine)
- * des gramicidines et tyrocidines

2.5.3. Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques

- Macrolides, lincosamines, streptogramines : les MLS sont de structure chimique différente mais ils s'apparentent par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et par les phénomènes de résistance. Ils inhibent la synthèse des protéines au niveau du ribosome. Ils se fixent tous au niveau de la sous unité 50S (6, 17, 34).
- Aminosides : les aminoglycosides perturbent la synthèse protéique au niveau du ribosome, en particulier au niveau de la sous unité 30S pour la streptomycine.
- Tétracyclines : leur action se traduit par une inhibition des synthèses protéiques au niveau des ribosomes. Ils se lient aux protéines de la sous unité 30S mais peuvent aussi se lier en faible proportion aux protéines de la sous unité 50S (6).

- Chloramphénicol : il fut synthétisé par *Streptomyces venesuelae*. Aujourd'hui il est produit par synthèse chimique. Il inhibe la synthèse des protéines en se liant de façon réversible aux ribosomes, en particulier au site A de la sous unité 50S.
- Acide fusidique : l'acide fusidique est le seul antibiotique de structure stéroïdique. Il agit sur la synthèse protéique en inhibant le facteur d'élongation G (translocase), bloquant ainsi la traduction de l'ARN messager au niveau de la sous unité 50S du ribosome (15).

5.4- Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques

- **Rifamycines** : les rifamycines sont les seuls antibiotiques de la famille des Ansamycines utilisés en thérapeutique (17). Deux produits sont utilisés :
 - la rifamycine SV
 - la rifampicine
 Les rifamycines se fixent sur l'ARN polymérase ADN dépendante (transcriptase) des bactéries et bloquent la synthèse de l'ARN messager au stade d'initiation (6,17).
- **Quinolones** : les produits rescents de cette famille sont particulièrement intéressants parce qu'ils élargissent le spectre d'activité vers les cocci à Gram (+) notamment. A l'image de l'acide nalidixique, ils inhibent la synthèse de l'ADN par blocage de l'activité de la sous unité alpha de l'ADN gyrase.
- **Novobiocine** : elle inhibe la réplication de l'ADN en empêchant la fixation de l'ATP sur la sous unité B de l'ADN gyrase.
- **Nitro-imidazolés** : leur activité passe par une réduction in vivo de leur groupement nitro (-NO₂). Ils se fixent sur l'ADN au niveau des régions riches en adénine et thymine, provoquant des coupures de brins et un déroulement de l'ADN.
- **Nitrofuranes** : ces antibiotiques de synthèse ont un spectre très large mais *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia* et *Acinetobacter* sont résistants. Leur action nécessite également la réduction du groupement nitro. Ils réagissent de façon électrostatique sur l'ADN provoquant ainsi des coupures et des substitutions de bases.

2.5.5- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates

Contrairement aux mammifères qui peuvent synthétiser de novo les folates, les bactéries à l'exception d'*Enterococcus faecalis* n'assimilent pas les folates exogènes.

BIOSYNTHESE DE L'ACIDE TETRAHYDROFOLIQUE CHEZ LES BACTERIES

2. amino 4 hydroxyl 6 hydroxymethyl-pteridine

↓ PAB
DHPS

acide dihydroptéroïque

↓ acide glutamique

acide dihydrofolique

↓ DHFR

acide tétrahydrofolique

- Sulfamides : les sulfamides inhibent de façon compétitive la dihydroptéroate synthétase en raison de leur analogie de structure avec celle du PAB.
- Les 2-4 diaminopyrimidines : ils agissent par inhibition des dihydrofolates réductases bactériennes. Il faut environ 50 mille fois leur concentration thérapeutique pour perturber la DHFR de l'hôte.
- Association sulfamides-diaminopyrimidines : à l'image du cotrimoxazole, ces associations sont souvent synergiques et bactéricides si la souche est sensible aux deux composés.
- Autres antifoliques
 - Les sulfones : les sulfones sont des analogues structuraux de l'acide para aminobenzoïque et des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate

synthétase.

- L'acide para aminosalicylique (PAS) : c'est un anti tuberculeux mineur analogue structural du PAB.

2.5.6- Antibiotiques anti tuberculeux

Plusieurs produits sont utilisés. L'isoniazide, la rifampicine, la streptomycine et le pyrazinamide sont bactéricides tandis que l'éthambutol et les thiosemicarazones sont bactériostatiques.

III RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

3.1- Historique

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue peu de temps après l'introduction en 1940 de la pénicilline G en thérapeutique. En effet la pénicilline G n'était plus active sur quelques souches staphylocoques. En 1953 au Japon, furent isolées des shigelles multirésistances notamment en chloramphénicol, à la tétracycline, à la streptomycine et aux sulfamides (35).

3.2. Notion de résistance - éléments de définition

L'une des principales caractéristiques d'un antibiotique est son spectre d'activité. Il regroupe toutes les souches bactériennes pouvant être tuées ou inhibées par une concentration de cet antibiotique inférieure à la concentration la plus élevée qu'un individu normal pourrait supporter, et qui arrive au site d'action.

Suivant que le nombre de souches concernées est élevé et suivant qu'il s'agisse de bactéries Gram (+) ou Gram (-), on parlera de spectre d'activité étroit ou de spectre d'activité large.

La résistance bactérienne se traduit sur le plan clinique par l'échec thérapeutique. In vitro elle se traduit par l'augmentation très significative de la CMI habituelle de la souche. Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle est apte à se multiplier dans un milieu où la concentration en antibiotique est nettement plus élevée que celle qui empêche habituellement le développement des souches de la même espèce. In vivo, une bactérie est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle peut supporter des concentrations de cette drogue pouvant atteindre le site de l'infection.

Ces différentes définitions peuvent être précisées avec le type de résistance ainsi qu'avec les mécanismes mis en jeu.

3.3. Types de résistances

3.3.1 Résistance Naturelle

La résistance naturelle est une caractéristique propre appartenant à l'ensemble des souches d'une espèce bactérienne (42). La résistance naturelle est de médiation chromosomique, elle est prédictible (25).

On pourrait citer l'exemple de la résistance naturelle des streptocoques, entérocoques aux aminosides et celui de toutes les bactéries à Gram (-) aux glycopeptides.

3.3.2 Résistance acquise

La résistance acquise ne s'applique qu'à certaines souches au sein de la même espèce bactérienne. Elle est due à une modification génétique : mutation ou apport de matériel génétique étranger (plasmides - transposons) (42). La résistance par mutation et la résistance dite secondaire sont similaires, mais cliniquement, il existe une différence énorme. La résistance acquise par mutation chromosomique est pré-existante alors que celle secondaire peut découler de l'utilisation thérapeutique de l'antibiotique (25).

La résistance secondaire est due à la pression de sélection qui découle de l'utilisation anarchique de certains antibiotiques.

3.3.3- Résistance Transférable

L'antibiorésistance est transférable. Cette résistance transférable est médiée par les plasmides. Il s'agit d'ADN extra chromosomique qui contient le code génétique de la résistance et qui est transféré d'une bactérie à une autre (25). Le transfert de résistance peut se faire par conjugaison ou par l'intermédiaire de bactériophages ou de transposons.

← Conjugaison

La conjugaison est le plus important des mécanismes de transfert de résistance spécialement chez les bactéries à Gram (-) (25). Elle nécessite un contact étroit entre la bactérie donnatrice et celle réceptrice. Ce transfert est sous la dépendance d'un facteur de résistance qui est un plasmide (RF plasmid) (25).

↑ Transfert de bactériophages

C'est le phénomène de transduction. Elle est retrouvée aussi bien chez les bactéries Gram(-) que Gram (+). La transduction est médiée par des bactériophages qui sont des virions capables de passer d'une bactérie à une autre et susceptibles d'insérer dans leur propre génome ou dans le génome bactérien un gène de résistance. La transduction peut être localisée ou généralisée. Lorsqu'elle est généralisée, elle est complète ou abortive.

→ Transfert de transposons

Les transposons sont de minuscules pièces d'ADN qui peuvent provenir des plasmides (25). Ils peuvent alors s'intégrer à d'autres plasmides ou au génome bactériens et représentent alors une forme permanente de médiation de résistance.

3.3.4 Résistance inductible (25)

Dans ce type de résistance, la bactérie est originellement sensible à l'antibiotique. Cependant, à cause des effets ravageurs de la drogue, les bactéries n'arrivent plus à l'absorber et deviennent ainsi réfractaires à toute absorption supplémentaire. Ce concept relativement nouveau dans l'action des antibiotiques vis à vis des bactéries concerne notamment les aminoglycosides (Streptomycine-Gentamicine) dans lesquels les systèmes de transport énergie dépendant sont responsables des mouvements de la drogue vers le cytoplasme des bactéries.

3.4. Support génétique (42)

Au plan génétique, la résistance acquise peut survenir par mutation ponctuelle, par remaniement du génome ou par acquisition de matériel génétique étranger. Il existe deux supports essentiels.

3.4.1 Résistance chromosomique

← Résistance chromosomique par mutation

Il peut s'agir d'une mutation ponctuelle dans un gène de résistance entraînant par exemple une hypersécrétion d'enzymes inactivants les antibiotiques ou dans un gène de structure qui modifie le spectre d'une enzyme. Une mutation se caractérise par :

- la rareté
- la spontanéité
- la discontinuité
- la spécificité et l'indépendance
- la stabilité
-

↑ Résistance chromosomique par remaniement

Il peut s'agir d'un remaniement du génome ; à titre d'exemple de l'insertion de séquences apportant un promoteur permettant d'exprimer des gènes silencieux ou alors de l'acquisition de fragments de chromosomes étrangers par transformation.

3.4.2 Résistance extrachromosomique

L'information génétique est portée par des plasmides transférables à d'autres bactéries par conjugaison, par transduction ou par transformation (42). L'ensemble de ces gènes peuvent être sur des fragments d'ADN appelés transposons qui peuvent s'intégrer soit dans des plasmides, soit dans le chromosome en allant de l'un à l'autre.

3.5. Mécanismes de résistance

3.5.1 Modification de la cible des antibiotiques

Un antibiotique a besoin comme toute molécule biologique d'entrer en interaction avec une cible précise.

Les modifications de la cible peuvent être dues :

- soit à une substitution de la cible au profit d'un autre ;
- soit à une diminution de l'affinité de la cible pour l'antibiotique(42).

On peut citer l'exemple de la résistance des staphylocoques aux pénicillines en particulier à la méthicilline. La résistance à la streptomycine peut provenir du changement d'un seul acide aminé de la sous-unité ribosomale entraînant ainsi une diminution de la fixation (25).

3.5.2 Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques

Ce mécanisme est bien élucidé par l'hydrolyse enzymatique du cycle bêtalactame support de l'activité des bêtalactamines. Chez les bactéries à Gram (-), l'enzyme une fois produite reste dans l'espace périplasmique. Elle ne protège alors que la bactérie qui la synthétise.

Chez les bactéries à Gram (+), l'enzyme produit se répand tout au tour de la bactérie. Elle peut alors protéger des bactéries qui n'en produisent pas.

On peut citer quelques exemples d'enzymes et leurs cibles spécifiques :

- les acétyltransférases, adényltransférases, phosphotransférases qui hydrolisent les aminosides
- les nucléotidyltransférases actives sur les lincosamines (42).

3.5.3. Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques

Cette diminution de la perméabilité entraîne une concentration insuffisante de l'antibiotique dans l'espace périplasmique ou dans le cytoplasme.

Cette diminution de la concentration de l'antibiotique résulte de deux mécanismes :

- Altération des protéines de membrane : il s'agit de porines qui deviennent réfractaires au passage de l'antibiotique à travers la membrane. Ce mécanisme peut affecter des antibiotiques comme les bêtalactamines, les quinolones, le chloramphénicol, les tétracyclines, le triméthoprim, les sulfamides et les polymyxines (42). L'exemple type de ce mécanisme est donné par le gonocoque vis à vis de la pénicilline G (25).
- Efflux actif de l'antibiotique : il s'agit d'un nouveau mécanisme retrouvé chez certaines bactéries aptes à transporter de manière active l'antibiotique de l'intérieur à l'extérieur de la cellule. Ce mécanisme peut concerner les tétracyclines, les lincosamines, les quinolones et l'érythromycine (42).

3.5.4 Développement d'une voie métabolique parallèle

Ce mécanisme est bien élucidé avec le triméthoprim. Certaines bactéries peuvent produire de nouvelles dihydrofolates réductases, l'enzyme affectée est alors hyperproduite (25). Dans d'autres cas le fonctionnement d'une voie différente est entièrement renouvelée ou alors l'impact d'un quelconque blocage est diminué.

IV RESISTANCE BACTERIENNE AUX MACROLIDES, LINCOSAMINES ET STREPTOGRAMINES

Ces trois groupes antibiotiques de structures chimiques différentes sont apparentés par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et par les phénomènes de résistance. A ces antibiotiques viennent s'ajouter d'autres dérivées semisynthétiques de l'érythromycine appartenant à la classe des azalides. Ces azalides élargissent le spectre d'activité vers *Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*.

4.1. Structure

Les macrolides sont constituées d'un grand cycle lactone à 14 ou 16 atomes de carbone appelé génine ou aglycone. Cette génine est généralement reliée à deux ou trois oses méthylaminés.

Les lincosamines ont une structure plus simple. Il s'agit d'une structure glycosidique avec liaison amide.

Les streptogramines ou synergistines comprennent chacune deux composant macrocycliques A et B agissant en synergie.

4.2. Mécanisme d'action

Les macrolides inhibent les synthèses protéiques ARN dépendant du site P de la sous unité 50 S du ribosome (40). Il semble que ce soit les étapes de translocation et de transpeptidation au niveau du site P qui soient inhibées (17).

Les lincosamines se fixent également au niveau du site P; leur action serait plus précoce que celle des macrolides notamment l'inhibition de la fixation de l'aminocyl-t-ARN au site accepteur ainsi que la formation de la liaison peptidique (17).

Les deux composés des streptogramines entraînent chacun isolément une bactériostase par blocage réversible de la synthèse protéique. L'effet synergique obtenu par mélange des composés A et B entraîne une bactéricidie. Le facteur A dont le mécanisme est plus élucidé semble inhiber le peptidyl-transférase (17).

4.3. Mécanismes de résistance

4.3.1 Résistance intrinsèque

Cette résistance est liée à une imperméabilité naturelle de la membrane externe. Elle est surtout retrouvée chez les bactéries à Gram (-). Les Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* résistent naturellement aux macrolides.

Les entérocoques (sauf *Enterococcus.durans* et *Enterococcus.faecium*), les *Haemophilus* et les *Neisseria* sont naturellement résistants aux lincosamines. Les entérocoques sont résistants au composant A des streptogramines (42).

4.3.2. Résistance acquise

← Modification de la cible

Les souches résistantes produisent une méthylase responsable de la diméthylation d'une adénine dans l'ARN 23 S de la sous unité ribosomale 50 S (39, 56). La résistance ainsi conférée est croisée entre macrolides, lincosamines et streptogramines B (MLS_B). Ce phénotype de résistance peut être inductible ou constitutif notamment chez les staphylocoques. Il est médié par des gènes appelés ERM portés par des plasmides ou des transposons situés sur le chromosome (42).

Si la résistance est inductible il y a dissociation entre l'activité des macrolides en C 14 (erythromycine) et celle des autres, des lincosamines, streptogramines.

Si elle est constitutive, la souche est résistante à l'ensemble des macrolides, lincosamines et au seul facteur B des streptogramines (56). Le facteur A reste actif et la synergie entre les deux facteurs est conservée.

↑ Inactivation enzymatique

Ici la résistance n'est croisée que lorsque les différentes molécules sont chimiquement apparentées. Ce sont soit des estérases ou des phosphotransférases pour les macrolides chez les entérobactéries soit les nucléotidyltransférases pour les lincosamines soit enfin une acétyltransférase pour la streptogramine A et une hydrolase pour la streptogramine B (42).

→ Efflux actif

Ce mécanisme décrit chez les staphylocoques est médié par un gène plasmidique (40).

Les différents mécanismes de résistance aux macrolides chez les staphylocoques sont rapportés dans le tableau ci-après

TABLEAU III : Type de résistance aux macrolides lincosamines et streptogramines chez les staphylocoques (40)

Mécanismes	Génotypes	Ery	Olé	Lin	Clin	SB	SA	SA+ SB
Modification de cible (ribosome)	erm (1) erm (2)	R R	S/R R	S R	S R	S R	S S	S s
Inactivation de l'antibiotique	Lip A Isa Saa-sbn	S S S	S S S	R I S/I	s I S/I	S S R	S R R	S I/R R
Efflux actif	erpA (3) mrsA	R R	R R	S S	S S	S R	S S	S ND

S = Sensible

I = résistance intermédiaire

R = résistance

s = Sensibilité diminuée

(1) : résistance inductible

(2) : résistance constitutive

(3) : chez les staphylocoques à coagulase négative seulement

Lin = lincomycine

ND = Non déterminé

Clin = clindamycine

Ery = Erythromycine

Olé = Oléandromycine

SB = Composant B des streptogramines

SA = Composant A des streptogramines

SA+SB = Streptogramines

V- METHODES D'ETUDE DE SENSIBILITE IN VITRO

Les résultats de cette étude sont à la base d'une future antibiothérapie. Il faut par conséquent utiliser des méthodes de plus en plus sensibles.

En pratique courante au laboratoire, l'étude de sensibilité se caractérise par la détermination de la CMI.

5.1. Définition de la CMI

La CMI est la plus faible concentration d'un antibiotique donné, capable d'inhiber toute croissance visible d'une bactérie déterminée après un temps d'incubation de 18 à 24 h (32, 66).

Chaque souche possède pour un antibiotique donné des valeurs critiques de CMI qui permettent de la catégoriser en sensible, intermédiaire ou résistante.

Ces valeurs tiennent compte de plusieurs facteurs :

- facteurs pharmacologiques qui reflètent la distribution in vivo de l'antibiotique.
- facteurs statistiques qui donnent la distribution des CMI des populations bactériennes appartenant à différentes espèces.
- facteurs épidémiologiques qui donnent des résultats cliniques de l'utilisation de l'antibiotique.
- Il faut noter qu'il n'existe pas d'accord international sur les bases permettant de délimiter ces catégories (11).

5.2. Méthode par diffusion en milieu gélosé : méthode des disques.

A partir d'une source quelconque (généralement du papier buvard sous forme de disque préimprégné), un antibiotique diffuse dans un milieu de culture gélosé en réalisant un gradient de concentration. Le milieu gélosé est ensemencé par épuisement ou par inondation. Après 18 à 24 h d'incubation apparaît une zone d'inhibition exprimant l'état de la compétition entre la diffusion de l'antibiotique à partir de la source et la croissance des bactéries. La valeur du diamètre d'inhibition donne la CMI de la souche pour l'antibiotique.

5.3. Méthode par dilution

5.3.1 Dilution en milieu gélosé (66)

Cette méthode nécessite l'incorporation de chaque concentration d'antibiotique dans le milieu liquéfié (45°C) et l'utilisation d'un ensemencement à tiges multiples délivrant 1 à 5 µl de l'inoculum correspondant à chaque bactérie testée (10^4 bactéries par spot). La CMI est donnée par la concentration d'antibiotique ne laissant subsister aucune ou au plus une à trois colonies après 18 h d'incubation à 37°C.

5.3.2 Dilution en bouillon

Cette technique est réalisée en tube ou en plaque de microtitration. Chaque tube reçoit une même quantité de bouillon, le même inoculum bactérien (10^6 bactéries par ml) et un même volume de la solution d'antibiotique à des concentrations différentes. Il faut veiller à ce qu'aucun trouble visible à l'œil nu n'apparaisse après la distribution de l'inoculum. La valeur de la CMI est donnée par la concentration obtenue dans le premier tube où il n'y a pas de croissance visible après 18 h d'incubation à 37°C.

5.4. Méthodes automatiques

- Système à deux concentrations d'antibiotiques : la croissance bactérienne est mesurée en présence de deux concentrations critiques basse et haute de l'antibiotique. La lecture se fait au photomètre après 24 h de croissance.
- Système rapide à un seul antibiotique : une seule concentration d'antibiotique indépendante des concentrations critiques est choisie. Le résultat est obtenu au bout de 3 à 6 heures

5.5. Le E-test® (Epsillometer-test)

Le E-test® est basé sur la combinaison des techniques de dilution et de diffusion. Cette technique permet de quantifier directement la susceptibilité antibactérienne en terme de valeurs distinctes de CMI qui sont déterminées à partir d'antibiotiques avec des gradients prédéfinis et continus de concentration. Ces valeurs peuvent être plus précises que les valeurs de CMI conventionnelles obtenues avec 2 séries discontinues de dilutions. Le E-test® diffère de la méthode conventionnelle des disques par l'utilisation de gradients de concentrations d'antibiotiques prétestés.

Le E-test® se compose d'une bande de plastique inerte non poreux de 5 mm de large et de 50 mm de long. Sur une face des bandelettes est marquée l'échelle de lecture des CMI en µg/ml, en plus deux lettres codées donnent le nom de l'antibiotique. Un gradient exponentiel préconçu d'antibiotiques secs et stables est immobilisé sur l'autre face de la bande de la concentration maximale à la concentration minimale. Le gradient couvre des concentrations continues allant de 0,016 à 256 µg/ml ou de 0,002 à 32 µg/ml selon l'antibiotique. Ce domaine correspond à 15x2 séries de dilution dans la méthode conventionnelle. Lorsqu'une bande de E-test® est appliquée sur une gélose en plaque et incubée, il y a libération immédiate de l'antibiotique à la surface de contact avec la gélose.

Après l'incubation, lorsque la croissance bactérienne est devenue visible, une ellipse symétrique d'inhibition centrée le long du porteur apparaît. La zone tranchante entrecoupant la bande donne la valeur de CMI en µg/ml.

Les valeurs de CMI du E-test® sont considérées comme reproductibles et directement proportionnelles aux valeurs NCCLS de référence de la technique de dilution sur gélose.

5.6. Facteurs influençant l'activité in vitro des antibiotiques

- densité de l'inoculum : en pratique courante au laboratoire, elle est donnée en échelle Mc FARLAND qui reflète la turbidité de l'inoculum. L'inoculum doit être choisi de façon que la diffusion de l'antibiotique soit correcte. Quelquefois la densité est augmentée pour accroître les chances de trouver des individus situés à l'extrémité de la distribution et dont la CMI est plus élevée. La recherche de la résistance à l'oxacilline en est un exemple.
- nature du milieu : le milieu MH constitue le milieu universellement utilisé pour déterminer l'activité in vitro des antibiotiques (66). Notamment le pH, la teneur en sel ou en cations divalents (Ca^{++} , Mg^{++}) peuvent influencer l'activité d'antibiotiques comme les bêtalactamines et les aminosides.
- atmosphère et durée d'incubation : une lecture faite 16 à 18 h après incubation donne des valeurs très reproductibles (66) . L'incubation de certaines souches nécessite une atmosphère riche en CO_2 . Il faudra alors tenir compte de la diminution du pH qui en résulte.

VI. UTILISATION DES RESULTATS DE SENSIBILITE EN CLINIQUE

En pratique clinique, le laboratoire donne des interprétations de type : la souche isolée est sensible à tel antibiotique et résistante à tel autre (32). Elles sont prédictives puisqu'elles signifient qu'il y aura succès ou échec probable de telle ou telle antibiothérapie. Pour chaque antibiotique l'interprétation repose sur la CMI mesurée mais aussi sur des données connues notamment de pharmacocinétique et de thérapeutique. Elle doit être modulée en fonction du terrain, du patient et du foyer infectieux.

Cependant, il est possible de traiter une infection sans faire d'antibiogramme si les données épidémiologiques permettent de suspecter la bactérie probablement responsable, et si la résistance de cette espèce évolue peu.

En plus des valeurs de CMI, l'étude du pouvoir bactéricide des antibiotiques seuls ou associés peut être particulièrement recommandée lors d'infections sévères ostéoarticulaires, chez les immunodéprimés ou lors des endocardites. Des discordances entre tests in vitro et réponse au traitement peuvent être observées. Les facteurs influençant sont :

- facteurs liés au malade : le patient représente un terrain particulier par l'état de son système immunitaire, le foyer de l'infection, la présence de corps étranger (prothèse).
- facteurs liés à l'antibiotique : ces facteurs sont surtout liés à la conduite de l'antibiothérapie notamment à des concentrations insuffisantes de l'antibiotique au foyer infectieux, par une posologie mal adaptée ou à une activité non bactéricide.
- facteurs liés aux bactéries : c'est la sélection de mutants résistants, une infection plurimicrobienne, une surinfection par un germe autre que celui pour lequel le traitement a été institué. Une lecture phénotypique de l'antibiogramme doit être fréquemment utilisée par le biologiste afin d'être à l'avant garde de mécanismes de résistances nouveaux.

I. MATERIEL ET METHODES

1.1. Souches bactériennes

1.1.1 Souches à tester

Notre étude a porté sur 118 souches de *Staphylococcus aureus* isolées et identifiées selon les méthodes de routine au laboratoire de bactériologie - virologie de l'Hôpital A. LE DANTEC (83%) et au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital FANN (17%) du CHU de Dakar.

Ces souches ont toutes été isolées entre janvier 1997 et janvier 1998 et proviennent de produits pathologiques divers :

- * hémoculture
- * urines
- * pus divers
- * LCR
- * sphère ORL
- * Liquide articulaire
- * Liquide de lavage broncho-alvéolaire
- * Liquide pleural

Ces souches avaient été conservées sur gélose MH en pente dans des tubes à bouchon stériles à la température ambiante.

1.1.2 Souches de référence

La validation des résultats de E. test[®] passe par l'utilisation de souches de référence dont les valeurs de CMI pour les antibiotiques testés sont connues (normes NCCLS).

Les souches de référence utilisées sont les suivantes :

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 35 218
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25 922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29 213

Ces souches sont originellement conservées dans un freezer à – 70°C et devront être régénérées avant utilisation.

1.2. Matériel et réactifs

1.2.1 Identification des souches

Les souches ont d'abord été réisolées sur gélose MH et gélose nutritive en boîte de Pétri. Elles ont ensuite été identifiées par l'aspect des colonies par la recherche de la coagulase libre et par la DNase.

❖ Matériel

- Boîte de Pétri
- Tubes à hémolyse
- portoirs
- micropipette
- papier buvard

❖ Réactifs

- Plasma de lapin lyophilisé
- eau distillée stérile
- Milieu MH
- gélose nutritive
- milieu DNase
- Acide chlorhydrique 1 N

1.2.2 Détection des pénicillinases

Les pénicillinases ont été détectées par la méthode iodométrique.

❖ Matériel

- tubes à hémolyse stériles
- portoirs
- micropipette
- eau distillée stérile
- flacon stériles de 60 ml
- flacon teinté
- embouts stériles
- bain marie

❖ Réactifs

- pénicilline G
- tampon phosphate 0,1 M à pH 6
- Amidon
- iode
- iodure de potassium
- souches bactériennes de 24 h

1.2.3 Détermination de la sensibilité par E. test ®

- ❖ Matériel pour la réalisation des tests
 - applicateurs
 - cassettes pour la sélection d'antibiotiques
 - bandes adhésives
 - feuilles dessicateurs
 - tubes de stockage
 - Ecouvillons stériles (coton cardé + baguettes en bois)
 - pinces
 - échelle Mc Farland
 - bandes E-test ®
 - boîtes de pétri de 90 ou 150 ml de diamètre
 - guide lecture E-test®
 - Nouvelles normes NCCLS
- ❖ Matériel pour la préparation des milieux
 - eau distillée
 - flacons en Pyrex de 250, 500 et 1000 ml
 - balance de précision
 - spatules
 - plaque chauffante
 - aide pipette manuelle et électrique
 - pipettes en verre stériles
 - pHmètre
- ❖ Réactifs
 - eau distillée
 - eau physiologique
 - NaOH
 - HCl
 - NaCl
 - milieu MH

1.2.4 Conservation des souches

Après la réalisation des tests les souches ont été conservées au freezer à moins 70 °C. Le matériel utilisé est le suivant :

- Cryotubes types NUNC®
- portoirs à cupules numérotés et couverts
- bande adhésive
- milieu trypticase-soja

1.2.5 Analyse des résultats

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel WHONET IV.

Le WHONET est une série de programmes informatiques qui facilite la gestion des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques de genres bactériens. Des programmes d'analyse utilisant ces données aident à la meilleure compréhension de l'épidémiologie des résistances aux antibiotiques et le développement de pratiques de prescription rationnelles et de procédures de contrôle des infections. Ces données employées à un niveau local peuvent aider les laboratoires à mieux sélectionner les antibiotiques à tester.

Le but du programme WHONET consiste à créer des réseaux nationaux et internationaux de surveillance continue de la résistance des germes aux antibiotiques.

1.3.Méthodes

1.3.1 Préparation des milieux

Evaluer la quantité de gélose MH et de gélose nutritive nécessaire pour réisoler (après 24 h d'incubation à l'étuve à 37°C) les souches et pour réaliser les tests.

Par ailleurs du bouillon MH (microbouillon) a été préparé aussi bien pour le réisolement des souches que pour la réalisation des tests.

La gélose nutritive a été répartie dans des boîtes de pétri tri ou quadricompartimentées. La gélose MH a été répartie dans des boîtes de pétri de 150 mm de diamètre et celle additionnée à 2% de NaCl (résistance hétérogène) dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre.

Répartir les boîtes dans des sacs en plastique et conserver au freezer à + 4° C.

1.3.2 Réisolement des souches

- sortir le bouillon MH du réfrigérateur et laisser revenir à la température de la paillasse.
- répartir les tubes à hémolyse stériles dans le portoir
- distribuer 2 ml de bouillon dans chaque tube sous la flamme du bec bunsen
- inoculer chaque tube à l'aide d'un anse de platine chargé à partir des tubes de conservation des souches
- incuber à l'étuve à 37°C pendant 3 à 4 h pour avoir des souches en phase exponentielle de croissance
- ensemercer les boîtes compartimentées contenant de la gélose nutritive

- mettre un peu d'alcool sur le couvercle des boîtes pour éviter l'envahissement des Proteus et incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

1.3.3 Mise en évidence de la coagulase libre

- charger le portoir de tubes à hémolyse stériles
- mettre en solution le plasma de lapin lyophilisé en ajoutant le volume d'eau distillée nécessaire
- mélanger dans chaque tube à hémolyse 0,5 ml de plasma et 0,5 ml d'une suspension dense de germes.
- laisser incuber à 37°C pendant 24 h
- lire 24 h après en inclinant le tube.

la présence de coagulase se traduit par une prise en masse du plasma

1.3.4 Mise en évidence de la DNase

- ensemercer la gélose à l'ADN par stries à partir de souches de 24 h
- incuber à l'étuve à 37°C pendant 24 h
- inonder la boîte de pétri avec HCl 1N
- enlever l'excès d'acide et rechercher la présence d'un halo clair autour de la strie d'ensemencement.

1.3.5 Recherche d'une pénicillinase par la méthode iodométrique

1.3.5.1 Préparation des réactifs

- ◆ Substrat : dissoudre la pénicilline G dans un tampon phosphate 0,1 M à pH 6 de manière à obtenir une concentration de 6 mg/ml.
- ◆ Solution d'amidon : ajouter 1g d'amidon à 100 ml d'eau distillée et chauffer au bain-marie jusqu'à dissolution complète.
- ◆ réactif iodo-ioduré : dissoudre 2,03g d'iode et 53,2g d'iodure de potassium dans un petit volume d'eau distillée puis compléter à 100 ml. Conserver dans un flacon en verre teinté. Les solutions de pénicilline et d'amidon doivent être préparées le jour des tests.

1.3.5.2 Principe et technique

Cette méthode a été décrite par PERRET en 1954. Le principe repose sur la

destruction du complexe amidon-lugol par l'acide pénicilloïque issu de l'attaque de la pénicilline par la pénicillinase.

Technique :

- Répartir des tubes à hémolyse stériles dans un portoir et distribuer 0,1 ml de solution de pénicilline G dans chacun d'eux.
- Préparer une suspension très dense de la souche à tester et l'ajouter au substrat dans la cupule, puis laisser à la température du laboratoire pendant 30 mn
- Ajouter 2 gouttes de solution d'amidon et mélanger
- Ajouter 1 goutte de lugol.

Une coloration bleue très sombre ou pourpre se développe immédiatement suite à la réaction entre le lugol et l'amidon. Agiter le mélange pendant une minute à la température du laboratoire.

Une décoloration survenant moins de 10 mn après traduit la production de pénicillinase.

1.3.6 Méthode d'étude de la sensibilité par E-test®

1.3.6.1 Principe

Le système E-test® consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient de concentration d'antibiotique couvrant 15 dilutions. Les concentrations prédéfinies sont immobilisées à la face opposée à l'échelle et représentent les valeurs de CMI. C'est une technique simple, fiable et la CMI obtenue est précise et reproductible.

1.3.6.2 Préparation des milieux

Il s'agissait de préparer du MH simple et du MH additionné à 2% de NaCl pour les tests de méthirésistance.

En effet les nouvelles normes NCCLS recommandent d'utiliser 2% de NaCl.

- Evaluer la quantité de gélose à préparer suivant le nombre de souches à tester. Il fallait pour chaque souche 2 grandes boîtes de Pétri (150 mm) et une petite boîte (90 mm) pour la résistance hétérogène.
- Dissoudre la gélose en poudre dans de l'eau distillée, mélanger et homogénéiser par chauffage à l'aide d'une plaque électrique.
- Ajuster si nécessaire le pH à $7,4 \pm 0,2$
- Autoclaver à 120°C pendant 15 mn
- Répartir aseptiquement dans les boîtes de pétri stériles
- laisser refroidir à la température ambiante

- les boîtes doivent avoir une épaisseur en gélose de $4 \pm 0,5$ mm et doivent être séchées à 37°C avant utilisation

1.3.6.3 Préparation de l'inoculum

- Utiliser des cultures viables de 24 h et préparer une suspension dense avec du bouillon MH.
- Incuber à l'étuve pendant 3 à 4 h à 37°C
- Ajuster la turbidité à 0,5 Mc Farland pour les tests sur la gélose MH simple, et à 1 Mc Farland sur la gélose additionnée à 2 % de NaCl.

1.3.6.4 Inoculation

- plonger l'écouvillon stérile dans le tube contenant l'inoculum
- bien l'essorer sur les bords du tube et écouvillonner entièrement la surface de la gélose dans les trois directions puis remettre les boîtes à sécher à 37°C avant l'application des bandes de E-test®.

1.3.6.5 Préparation des bandes

- Faire sortir le paquet de bandes du freezer et laisser revenir à la température ambiante jusqu'à ce que toute l'humidité s'évapore avant de l'ouvrir. (Attendre 30 mn s'il était à -20° C et 1 h à -70° C).
- Vérifier que le paquet n'est pas endommagé
- Ouvrir le paquet en coupant le long des pointillés et retirer les bandes à l'aide d'une pince ou des doigts en les tenant par le bout où il est marqué E
- Placer les bandes dans les cassettes d'insertion. Ne mettre que le même type d'antibiotique dans chaque puits
- Choisir les antibiotiques suivant la souche à tester

1.3.6.6 Application des bandes

Il faut s'assurer avant tout que la surface de la gélose est bien sèche et que le ruban adhésif de l'applicateur est toujours collant. Déposer la bande fermement sur la gélose avec l'aide de l'applicateur. Il faudra au préalable s'assurer que la face graduée de la bande est bien celle en contact avec le côté adhésif de l'applicateur. Une fois la bande déposée, elle ne doit plus être déplacée pour éviter de gêner la diffusion immédiate de l'antibiotique.

1.3.6.7 Incubation

Les conditions d'incubation du staphylocoque doré sont à 37°C pendant 18 à 24 h.

1.3.6.8 Lecture

Les boîtes ne sont lues qu'après la période d'incubation de 18 à 24 h et à condition d'avoir une ellipse d'inhibition clairement visible. Lire la CMI au point d'intersection de l'ellipse et de l'échelle. La lecture doit se faire au niveau de la terminaison en pointe où il y a une inhibition complète de toute croissance y compris les voiles et les colonies isolées. Il faut auparavant lire les valeurs de CMI des souches de référence et comparer les résultats avec les normes NCCLS.

Le test est validé lorsqu'il y a une correspondance et indique que la manipulation a respecté toutes les conditions.

Les résultats des souches testées peuvent alors être lus avec comme référence le guide de lecture des E-test®.

1.3.6.9 Contrôle de qualité

La validation des résultats passe par l'utilisation de souches de référence et par l'observation d'un certain nombre de conditions.

- Souches de référence

- * Obtenir de souches de contrôle de qualité de sources sûres : ATCC
- * Entretenir correctement les souches de contrôle de qualité en les conservant selon deux méthodes :
 - stock culture pour l'utilisation fréquente
 - à -70°C dans des cryotubes pour longue conservation .
 - Chaque souche de référence est disponible en deux séries de 20 exemplaires conservées séparément dans un freezer à -70°C.

Précautions à observer.

- Vérifier la date de péremption des milieux de culture et de tous réactifs à utiliser
- Un stockage correcte des milieux de culture, des disques et bandes de E-test® avec un relevé quotidien de la température du freezer et du frigo.
- Respecter les conditions de manipulation et la démarche du protocole établi
 - Sélection correcte de la terminaison en pointe de la CMI
- Vérifier la profondeur de la gélose, la capacité de croissance supportée et la présence d'antagonistes telles la thymidine, la thymine et les ions.

II-RESULTATS ET COMMENTAIRES

Au cours de cette étude, nous avons testé 10 antibiotiques sur 118 souches de *S. aureus*.

Parmi les antibiotiques testés il y avait :

- des bétalactamines
 - . benzylpénicilline
 - . amoxicilline + acide clavulanique
 - . oxacilline
- Un (1) aminoside
 - . gentamicine
- Un (1) macrolide
 - . erythromycine
- Une (1) quinolone
 - . ciprofloxacine
- Une (1) glycopeptide
 - . vancomycine
- des antibiotiques divers
 - . acide fusidique
 - . rifampicine
 - . sulfaméthoxazole + triméthoprine

L'association amoxicilline + acide clavulanique n'a été testée que sur les souches productrices de pénicillinases.

Le tableau (I) donne la répartition des souches en fonction de la nature du produit pathologique.

La répartition des souches suivant la provenance est donnée dans le tableau (II) .

TABLEAU (I) = Répartition des souches en fonction de la nature du produit pathologique

Produits pathologiques	Nombre d'isolats	%
Sang	23	19,5
Sécrétions bronchiques	1	0,8
LCR	1	0,8
Liquide articulaire	1	0,8
Liquide pleural	3	2,5
Pus	86	72,9
Urines	2	1,7
Divers	1	0,8
TOTAL	118	100

TABLEAU (II) = Répartition des souches en fonction de la provenance

Provenance	Nombre d'isolats	%
Réanimation	17	14,4
Médecine	8	6,8
Gynécologie	6	5,1
Divers	39	31,1
Externes	22	18,6
Pédiatrie	7	5,9
Chirurgie	19	16,1
TOTAL	118	100

2.1 – Résultats globaux

2.1 1 – Détection des pénicillinases

Sur les 118 souches testées par la méthode iodométrique, 95 ont été positives soit 80,5% (TABLEAU (III)).

2.1-2 – Sensibilité aux antibiotiques

2.1.2.1- Sensibilité aux bêtalactamines.

Les résultats de sensibilité à la pénicilline G, à l'Oxacilline et à l'Amoxicilline /Acide Clavulanique sont très différents. 92 % des souches testées sont résistantes à la pénicilline G, 14% à l'Oxacilline. L'association Amoxicilline/ Acide Clavulanique inhibe 93 % des souches (TABLEAU (IV)).

La distribution du nombre de souches en fonction des CMI est représentée par des histogrammes (Figures (1), (2) et (3)).

2.1.2.2 - Sensibilité aux autres antibiotiques (TABLEAU (IV))

* Vancomycine (Figure (4)) : les résultats montrent une absence de résistance à cet antibiotique avec cependant 2% de souches de sensibilité intermédiaire.

* Erythromycine (Figure (5)) : l'erythromycine conserve une bonne activité sur nos souches avec 82% inhibition.

* Autres antibiotiques : la gentamicine, la ciprofloxacine et la rifampicine inhibent respectivement 92%, 97% et 95% des souches (Figures (6), (7) et (8)).

L'association sulfaméthoxazole/triméthoprimine a une activité moyenne avec un taux de résistance de 45%. Quant à l'acide fusidique il est actif sur 83% de nos souches (Figures (9) et (10)).

TABLEAU (3) = Souches Bêtalactamase + et -

Tableau IV: Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus

Code	Nom	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
	ATB			Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	95	7	0	93	1	3	1.11	.125-32
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	118	2	2	97	.38	.75	0.40	.094-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	118	7	11	82	.125	4	0.23	.031-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	118	5	3	92	.19	1.5	0.32	.016-256
.OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	118	14	0	86	.5	24	0.92	.19-256
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	118	92	1	7	1	32	2.03	.031-256
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	118	5	0	95	.016	.25	0.03	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	118	45	0	55	.25	32	1.54	.064-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	118	0	2	98	1.5	2	1.69	1-12
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	118	4	13	83	1	6	1.14	.125-256

2.2 – Souches bétalactamases positives

La sécrétion de bétalactamases, enzymes qui hydrolysent le cycle bétalactame support d'activité des bétalactamines, constitue un mécanisme important de résistance de *S. aureus* à ces antibiotiques, à la Pénicilline G. en particulier.

Sur les 118 souches testées, 95 ont sécrété des Pénicillinases.

2.2.1 – Sensibilité aux bétalactamines

Toutes les souches productrices de Pénicillinases sont résistantes à la Pénicilline G.

L'association Amoxicilline Acide Clavulanique s'est révélée très active sur ces souches avec un taux de sensibilité de 93%. 14% de ces souches sont Méthi-R (TABLEAU (V)). La distribution des CMI est donnée par les Figures (11), (12) et (13).

2.2.2- Sensibilité aux autres antibiotiques (TABLEAU (V))

* A la Vancomycine (Figure (14))

Aucune de ces souches n'a résisté à la Vancomycine.

* A l'Erythromycine (Figure (15))

Avec 83% de souches inhibées, l'Erythromycine conserve une bonne activité.

* A la Gentamicine (Figure (16))

6% des souches Pénicillinases + résistent à cet antibiotique

* A la Ciprofloxacin (Figure (17))

La Ciprofloxacin a inhibé 97% des souches. Ce qui indique sa très bonne activité.

* A la Rifampicine (Figure (18))

La Rifampicine a été efficace sur 95% des souches.

* A l'association Sulfaméthoxazole/ Triméthoprime (Figure (19))

47% des souches Pénicillinases + ont résisté à cet antibiotique.

* A l'Acide Fusidique (Figure (20))

L'acide Fusidique garde une activité correcte avec un taux d'inhibition de 80%.

Tableau V : profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* sécrétrices de bétalactamase

Code	Nom	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
	ATB			Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	95	7	0	93	1	3	1.11	.125-32
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	95	1	2	97	.38	.75	0.41	.125-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	95	4	13	83	.125	2	0.20	.031-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	95	6	2	92	.19	1	0.33	.047-256
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	95	14	0	86	.5	24	0.93	.25-256
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	95	100	0	0	1.5	32	2.94	.25-256
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	95	5	0	95	.016	.38	0.04	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	95	47	0	53	.38	32	1.71	.064-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	95	0	2	98	1.5	2	1.68	1-12
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	95	5	15	80	1	6	1.20	.125-256

2.3 – Souches Méthi-R

Les souches Méthi-R représentent 14% dans notre étude. Les CMI 50/ CMI 90 des différents antibiotiques testés ont considérablement augmenté Par rapport aux souches prises globalement.

Toutes les souches méthi-R sont résistantes à la pénicilline.

La CMI 90 de la gentamicine passe de 1,5 à 64 µg/ml, celle de l'Erythromycine de 4 à 256 µg/ml et celle de l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique de 3 à 16 µg/ml (Tableau (VI)).

2.3.1- Souches Méthi-R / Bétalactamases (+)

Ces souches associent deux des mécanismes de résistance les plus importants des *S. aureus* aux Bétalactamines par rapport aux souches Méthi-R, la sensibilité aux antibiotiques diminuent légèrement.

Les pourcentages de sensibilité de la Ciprofloxacin, de l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim et de la Vancomycine passent respectivement de 94 à 92%, de 31 à 23% et de 94 à 92% (Tableau (VII)).

3 - 2- Souches Méthi-R / Bétalactamases (-)

Ces souches expriment un seul mécanisme de résistance aux Bétalactamines. Elles sont encore plus sensibles aux autres antibiotiques que les souches Méthi-R (Tableau (VIII)).

2.4 - Souches Méthi-S

86% des souches testées sont sensibles à l'Oxacilline.

2.4.1- Souches Méthi-S/ Bétalactamases (+)

L'association Amoxicilline/Acide clavulanique inhibe 95% de ces souches, l'Erythromycine et la Vancomycine respectivement 89% et 99% (Tableau (IX)).

4 - 2- Souches Méthi-S/ Bétalactamases (-)

Ces souches sont très sensibles aux antibiotiques notamment à la Pénicilline avec 40% de sensibilité (Tableau (X))

Tableau VI : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus méthi-R

Code	Nom	Val.critiques		Nombre				GEOM.			
	ATB			Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	13	23	0	77	1.5	16	2.49	.75-24
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	16	6	0	94	.5	1	0.59	.25-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	16	19	38	44	1.5	256	1.65	.094-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	16	25	19	56	1	64	1.92	.016-256
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	16	100	0	0	48	256	50.83	4-256
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	16	100	0	0	6	192	7.48	.25-192
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	16	31	0	69	.094	24	0.28	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	16	69	0	31	32	32	6.66	.094-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	16	0	6	94	2	2	1.87	1-8
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	16	6	38	56	1.5	12	2.45	.5-32

Tableau VII: Profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* méthiR et sécrétrices de bêtalactamase

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	13	100	0	0	0	0	6	192	11.27	1.5-192
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	13	23	0	77	1.5	16	2.49	.75-24		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	13	31	15	54	2	64	2.96	.125-256		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	13	15	38	46	1.5	8	1.30	.094-256		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	13	100	0	0	48	128	45.28	4-256		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	13	8	0	92	.5	1	0.68	.25-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	13	0	8	92	2	2	1.95	1.5-8		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	13	38	0	62	.094	24	0.46	.016-24		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	13	77	0	23	32	32	8.98	.094-32		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	13	8	46	46	3	12	3.15	.5-32		

Tableau VIII: Profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* méthiR et non sécrétrices de bêtalactamase

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	3	100	0	0	1	8	1.26	.25-8		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	0	33	67	.19	8	0.29	.016-8		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	33	33	33	3	256	4.58	.125-256		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	3	100	0	0	96	256	83.86	24-256		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	0	100	.38	.38	0.33	.25-.38		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	2	2	1.59	1-2		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	3	0	0	100	.023	.094	0.03	.016-.094		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	3	33	0	67	1.5	32	1.82	.125-32		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	3	0	0	100	.75	1.5	0.83	.5-1.5		

Tableau IX: Profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* méthiS et sécrétrices de bêtalactamase

Code	Nom ATB	Val.critiques	Nombre Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125 R>=.25	82	100	0	0	1	24	2.38	.25-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4 R>=8	82	5	0	95	.75	1.5	0.98	.125-32
GEN	GENTAMICIN	S<=4 R>=16	82	2	0	98	.19	.75	0.24	.047-24
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5 R>=8	82	2	9	89	.094	.75	0.15	.031-256
OXA	OXACILLIN	S<=2 R>=4	82	0	0	100	.5	1	0.50	.25-2
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1 R>=4	82	0	2	98	.38	.75	0.38	.125-2
VAN	VANCOMYCIN	S<=4 R>=32	82	0	1	99	1.5	2	1.65	1-12
RIF	RIFAMPICINE	S<=1 R>=4	82	0	0	100	.016	.064	0.02	.016-1
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2 R>=4	82	43	0	57	.19	32	1.31	.064-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2 R>=16	82	5	10	85	1	4	1.03	.125-256

Tableau X : Profil de Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* méthiS et non sécrétrices de bêtalactamase

Code	Nom ATB	Val.critiques	Nombre Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125 R>=.25	20	55	5	40	.25	16	0.37	.031-32
GEN	GENTAMICIN	S<=4 R>=16	20	0	0	100	.125	1	0.25	.064-4
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5 R>=8	20	15	0	85	.125	8	0.32	.047-256
OXA	OXACILLIN	S<=2 R>=4	20	0	0	100	.38	1	0.45	.19-1.5
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1 R>=4	20	5	0	95	.25	.38	0.35	.094-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4 R>=32	20	0	0	100	1.5	2	1.73	1.5-2
RIF	RIFAMPICINE	S<=1 R>=4	20	5	0	95	.016	.032	0.02	.016-4
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2 R>=4	20	35	0	65	.125	32	0.93	.094-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2 R>=16	20	0	5	95	1	2	0.94	.38-8

2.5— Sensibilité des souches en fonction de la nature du produit pathologique

Les souches testées ont surtout été isolées de pus (86), d'hémoculture (23), d'urines (2) et de produits pathologiques divers (7).

* Pus

La Pénicilline n'est active que sur 6% de ces souches alors que la Ciprofloxacine, la Rifampicine et la Vancomycine gardent de très bonnes activités avec respectivement 98%, 96% et 99% de sensibilité (Tableau (XI)).

* Hémoculture

L'oxacilline, l'Erythromycine et la Gentamicine sont actifs respectivement sur 96%, 78% et 96 % de ces souches (Tableau (XII)).

* Urines

La Pénicilline et l'association sulfaméthoxazole/Triméthoprine ont une activité nulle.

La Ciprofloxacine, la Vancomycine et l'association Amoxicilline/ Acide clavulanique inhibent chacune la totalité des souches alors que les autres antibiotiques en inhibent chacun 50% (Tableau (XIII)).

Tableau XI: Profil de Sensibilité de souches de Staphylococcus aureus isolées de Pus

Code	Nom ATB	Nombre		GEOM.						
		Val.critiques	Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125 R>=.25	86	93	1	6	1	24	1.85	.031-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4 R>=8	69	9	0	91	1	3	1.18	.38-24
GEN	GENTAMICIN	S<=4 R>=16	86	5	2	93	.19	1.5	0.30	.016-64
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5 R>=8	86	3	13	84	.125	3	0.21	.031-256
OXA	OXACILLIN	S<=2 R>=4	86	16	0	84	.5	48	1.06	.19-256
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1 R>=4	86	0	2	98	.38	.75	0.37	.094-2
VAN	VANCOMYCIN	S<=4 R>=32	86	0	1	99	2	2	1.77	1-8
RIF	RIFAMPICINE	S<=1 R>=4	86	3	0	97	.016	.094	0.03	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2 R>=4	86	48	0	52	2	32	1.79	.064-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2 R>=16	86	2	10	87	1	3	1.00	.125-32

Tableau XII: Profil de Sensibilité de souches de Staphylococcus aureus isolées d'Hémocultures

Code	Nom ATB	Nombre		GEOM.						
		Val.critiques	Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125 R>=.25	23	91	0	9	1.5	128	3.37	.094-256
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4 R>=8	20	5	0	95	1	1	1.06	.5-32
GEN	GENTAMICIN	S<=4 R>=16	23	4	0	96	.19	.5	0.29	.094-256
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5 R>=8	23	13	9	78	.125	8	0.31	.047-256
OXA	OXACILLIN	S<=2 R>=4	23	4	0	96	.5	1	0.54	.19-12
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1 R>=4	23	9	0	91	.38	.75	0.56	.25-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4 R>=32	23	0	0	100	1	2	1.34	1-2
RIF	RIFAMPICINE	S<=1 R>=4	23	9	0	91	.016	.38	0.04	.016-4
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2 R>=4	23	35	0	65	.125	32	0.84	.094-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2 R>=16	23	13	17	70	1	16	1.57	.125-256

Tableau XIII: Profil de Sensibilité de souches de Staphylococcus aureus isolées d'urines

Code	Nom ATB	Nombre		GEOM.						
		Val.critiques	Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
PEN	PENICILLIN G	S<=.125 R>=.25	2	100	0	0	.38	2	0.87	.38-2
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4 R>=8	2	0	0	100	.5	1	0.71	.5-1
GEN	GENTAMICIN	S<=4 R>=16	2	0	50	50	.75	12	3.00	.75-12
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5 R>=8	2	50	0	50	.25	8	1.41	.25-8
OXA	OXACILLIN	S<=2 R>=4	2	50	0	50	.38	48	4.27	.38-48
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1 R>=4	2	0	0	100	.25	.75	0.43	.25-.75
VAN	VANCOMYCIN	S<=4 R>=32	2	0	0	100	1.5	1.5	1.50	1.5-1.5
RIF	RIFAMPICINE	S<=1 R>=4	2	50	0	50	.016	24	0.62	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2 R>=4	2	100	0	0	32	32	32.00	32-32
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2 R>=16	2	0	50	50	1.5	8	3.46	1.5-8

2.6 – Souches des hospitalisés / souches des externes

Parmi les 118 souches testées, 96 proviennent de malades hospitalisés et 22 d'externes.

2.6.1- Résultats globaux

* Hospitalisés (Tableau (XIV)).

La Pénicilline reste très faiblement active sur ces souches, elle n'inhibe que 7% d'entre elles.

2% de ces souches sont de sensibilité intermédiaire à la Vancomycine.

* Externes (Tableau (XV)).

Toutes ces souches sont sensibles à la Vancomycine.

L'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprine n'est active que sur 50% des souches.

2.6.2- Résistance à l'oxacilline

Sur les 16 souches Méthi-R, 3 proviennent d'externes et 13 de patients hospitalisés.

Leurs profils de sensibilité aux différents antibiotiques sont donnés dans les tableaux (XVI) pour les hospitalisés et (XVII) pour les externes.

2.6.3- Résistance à l'oxacilline/sécrétion de bêta-lactamase

* Hospitalisés

Les souches Méthi-R Bêta-lactamase+ donnent des valeurs de CMI 50 et CMI 90 plus élevées que celles des souches Méthi-R/bêta-lactamase- (Tableau (XVIII) et (XIX)).

* Externes

La seule souche Méthi-R et bêta-lactamase- est sensible à tous les antibiotiques sauf à l'Erythromycine et la Pénicilline G. (Tableau (XXI)).

Aucune des souches Méthi-R bêta-lactamase+ n'est sensible à l'association sulfaméthoxazole/Triméthoprine (Tableau (XX)).

Tableau XIV : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats						GEOM. MEAN		RANGE
		%R	%I	%S	MIC50	MIC90						
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	79	9	0	91	1	3	1.18	.125-32	
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	96	2	0	98	.38	.75	0.40	.094-32	
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	96	6	13	81	.125	4	0.24	.031-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	96	6	2	92	.19	2	0.32	.016-256	
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	96	14	0	86	.5	24	0.92	.19-256	
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	96	92	1	7	1.5	32	2.22	.031-256	
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	96	5	0	95	.016	.38	0.04	.016-24	
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	96	44	0	56	.19	32	1.47	.064-32	
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	96	0	2	98	1.5	2	1.70	1-12	
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	96	5	15	80	1	6	1.22	.125-256	

Tableau XV : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées de malades externes

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats						GEOM. MEAN		RANGE
		%R	%I	%S	MIC50	MIC90						
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	16	0	0	100	.75	1.5	0.81	.38-2	
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	22	0	9	91	.25	1	0.38	.125-2	
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	22	9	5	86	.125	1.5	0.21	.047-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	22	0	5	95	.19	1	0.31	.094-12	
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	22	14	0	86	.5	24	0.91	.19-64	
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	22	95	0	5	.75	16	1.36	.047-24	
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	22	5	0	95	.016	.023	0.02	.016-24	
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	22	50	0	50	1.5	32	1.90	.094-32	
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	22	0	0	100	1.5	2	1.64	1-2	
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	22	0	5	95	1	2	0.84	.125-8	

Tableau XVI : Souches MethiR isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	11	27	0	73	1.5	16	2.76	.75-24		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	13	8	0	92	.5	1	0.67	.38-32		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	13	8	46	46	1.5	4	1.24	.094-256		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	13	31	15	54	2	64	2.38	.016-256		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	13	100	0	0	96	256	53.13	4-256		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	13	100	0	0	6	192	7.52	.25-192		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	13	31	0	69	.094	24	0.29	.016-24		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	13	69	0	31	32	32	6.88	.094-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	13	0	8	92	2	2	1.99	1.5-8		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	13	8	38	54	2	12	2.41	.5-32		

Tableau XVII : Souches MethiR isolées de malades externes

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	2	0	0	100	1	2	1.41	1-2		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	3	0	0	100	.25	.75	0.36	.25-.75		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	3	67	0	33	8	256	5.77	.094-256		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	3	0	33	67	.19	12	0.76	.19-12		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	3	100	0	0	48	64	41.93	24-64		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	3	100	0	0	8	24	7.27	2-24		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	3	33	0	67	.032	24	0.23	.016-24		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	3	67	0	33	4	32	5.77	1.5-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	3	0	0	100	1.5	2	1.44	1-2		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	3	0	33	67	1.5	8	2.62	1.5-8		

Tableau XVIII : Souches MethiR et bêtalactamase négative isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	2	0	0	100	.38	.38	0.38	.38-.38		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	2	0	50	50	.125	3	0.61	.125-3		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	2	0	50	50	.016	8	0.36	.016-8		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	2	100	0	0	96	256	156.77	96-256		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	2	100	0	0	.25	1	0.50	.25-1		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	2	0	0	100	.023	.094	0.05	.023-.094		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	2	50	0	50	.125	32	2.00	.125-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	2	0	0	100	2	2	2.00	2-2		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	2	0	0	100	.5	.75	0.61	.5-.75		

Tableau XIX : Souches MethiR et bêtalactamase positive isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	11	27	0	73	1.5	16	2.76	.75-24		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	11	9	0	91	.5	1	0.74	.38-32		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	11	9	45	45	1.5	4	1.40	.094-256		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	11	36	9	55	2	64	3.35	.125-256		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	11	100	0	0	48	128	43.64	4-256		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	11	100	0	0	6	192	12.32	1.5-192		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	11	36	0	64	.094	24	0.41	.016-24		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	11	73	0	27	32	32	8.62	.094-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	11	0	9	91	2	2	1.99	1.5-8		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	11	9	45	45	3	12	3.09	.5-32		

Tableau XX: Souches MethiR et bêta lactamase positive isolées de malades externes

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	2	0	0	100	1	2	1.41	1-2		
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	2	0	0	100	.25	.75	0.43	.25-.75		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	2	50	0	50	.094	8	0.87	.094-8		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	2	0	50	50	.19	12	1.51	.19-12		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	2	100	0	0	48	64	55.43	48-64		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	2	100	0	0	2	24	6.93	2-24		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	2	50	0	50	.032	24	0.86	.031-24		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	2	100	0	0	4	32	11.31	4-32		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	2	0	0	100	1.5	2	1.73	1.5-2		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	2	0	50	50	1.5	8	3.46	1.5-8		

Tableau XXI : Souches MethiR et bêta lactamase négative isolées de malades externes

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats			%R	%I	%S	MIC50	MIC90	GEOM. MEAN	RANGE
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	1	0	0	100	.25	.25	0.25	.25-.25		
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	1	100	0	0	256	256	256.00	256-256		
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	1	0	0	100	.19	.19	0.19	.19-.19		
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	1	100	0	0	24	24	24.00	24-24		
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	1	100	0	0	8	8	8.00	8-8		
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	1	0	0	100	.016	.016	0.02	.016-.016		
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	1	0	0	100	1.5	1.5	1.50	1.5-1.5		
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	1	0	0	100	1	1	1.00	1-1		
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	1	0	0	100	1.5	1.5	1.50	1.5-1.5		

2.7– Souches des hospitalisées

96 de nos souches proviennent d'hospitalisés

2.7.1- Hospitalisés/ Bétalactamase

-> Bétalactamase(+)

Elles sont au nombre de 79. 14% d'entre elles sont Méthi-R et 40% résistent à l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprine (Tableau (XXII)).

-> Bétalactamase(-)

Parmi ces souches au nombre de 17, on note 12% de Méthi-R et 100% de sensibilité à la Vancomycine (Tableau (XXIII)).

2.7.2- Hospitalisés/Nature du produit pathologique

Les principaux produits pathologiques concernés sont les urines, le sang et les pus.

Le profil de sensibilité de ces différentes souches figure respectivement pour les urines dans le tableau (XXIV), pus (Tableau (XXV)) et pour le sang (Tableau (XXVI)).

Tableau XXII : Souches bêta-lactamase positive isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats						GEOM. MEAN		RANGE
		%R	%I	%S	MIC50	MIC90						
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	79	9	0	91	1	3	1.18	.125-32	
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	79	1	0	99	.38	.75	0.41	.125-32	
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	79	4	14	82	.125	3	0.21	.031-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	79	8	1	91	.19	2	0.33	.047-256	
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	79	14	0	86	.5	24	0.93	.25-256	
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	79	100	0	0	2	64	3.37	.25-256	
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	79	5	0	95	.016	.38	0.04	.016-24	
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	79	44	0	56	.19	32	1.50	.064-32	
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	79	0	3	97	1.5	2	1.69	1-12	
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	79	6	16	77	1	8	1.27	.125-256	

Tableau XXIII : Souches bêta-lactamase négative isolées de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre Isolats						GEOM. MEAN		RANGE
		%R	%I	%S	MIC50	MIC90						
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	17	6	0	94	.38	.38	0.36	.094-32	
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	17	18	6	76	.125	256	0.46	.064-256	
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	17	0	6	94	.19	4	0.27	.016-8	
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	17	12	0	88	.5	96	0.91	.19-256	
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	17	53	6	41	.25	16	0.32	.031-32	
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	17	6	0	94	.016	.094	0.03	.016-4	
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	17	41	0	59	.25	32	1.35	.094-32	
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	17	0	0	100	2	2	1.75	1.5-2	
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	17	0	6	94	1	2	1.00	.38-8	

Tableau XXIV : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées d'urines de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre			GEOM.				
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	1	0	0	100	.5	.5	0.50	.5-.5
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	1	0	0	100	.25	.25	0.25	.25-.25
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	1	0	0	100	.25	.25	0.25	.25-.25
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	1	0	0	100	.75	.75	0.75	.75-.75
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	1	0	0	100	.38	.38	0.38	.38-.38
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	1	100	0	0	.38	.38	0.38	.38-.38
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	1	0	0	100	.016	.016	0.02	.016-.016
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	1	100	0	0	32	32	32.00	32-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	1	0	0	100	1.5	1.5	1.50	1.5-1.5
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	1	0	0	100	1.5	1.5	1.50	1.5-1.5

Tableau XXV : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées de pus de malades hospitalisés

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre			GEOM.				
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	54	11	0	89	1	12	1.32	.5-24
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	66	0	0	100	.38	.75	0.37	.094-1
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	66	3	15	82	.125	3	0.22	.031-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	66	6	3	91	.19	4	0.32	.016-64
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	66	18	0	82	.5	96	1.19	.19-256
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	66	92	2	6	1.5	32	2.02	.031-256
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	66	5	0	95	.016	.38	0.03	.016-24
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	66	47	0	53	2	32	1.76	.064-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	66	0	2	98	2	2	1.81	1-8
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	66	3	14	83	1	4	1.08	.25-32

Tableau XXVI : Profil de Sensibilité des souches de Staphylococcus aureus isolées d'hémocultures

Code	Nom ATB	Val.critiques		Nombre			GEOM.				
				Isolats	%R	%I	%S	MIC50	MIC90	MEAN	RANGE
AUG	AMOXICILLIN/CLA	S<=4	R>=8	20	5	0	95	1	1	1.06	.5-32
CIP	CIPROFLOXACIN	S<=1	R>=4	23	9	0	91	.38	.75	0.56	.25-32
ERY	ERYTHROMYCIN	S<=.5	R>=8	23	13	9	78	.125	8	0.31	.047-256
GEN	GENTAMICIN	S<=4	R>=16	23	4	0	96	.19	.5	0.29	.094-256
OXA	OXACILLIN	S<=2	R>=4	23	4	0	96	.5	1	0.54	.19-12
PEN	PENICILLIN G	S<=.125	R>=.25	23	91	0	9	1.5	128	3.37	.094-256
RIF	RIFAMPICINE	S<=1	R>=4	23	9	0	91	.016	.38	0.04	.016-4
SXT	TRIMETHOPRIM/SU	S<=2	R>=4	23	35	0	65	.125	32	0.84	.094-32
VAN	VANCOMYCIN	S<=4	R>=32	23	0	0	100	1	2	1.34	1-2
FUS	FUSIDIC ACID	S<=2	R>=16	23	13	17	70	1	16	1.57	.125-256

III - DISCUSSION

3.1 - Méthode E-test®

Le E-Test® a été présenté pour la 1ère fois à LOS ANGELES en 1988 par l'ICAAC. Depuis, plus de 1000 références ont évoqué cette méthode. Parmi elles, 300 études publiées dans des revues de santé et près de 700 communications ont été présentées lors de conférences internationales.

Aujourd'hui, cette méthode est utilisée dans plus de 90 pays à travers le monde. Elle représente la méthode de référence de 50 programmes de surveillance de la sensibilité des germes menés dans 40 pays avec la participation de plus de 500 laboratoires (18).

Plusieurs études comparatives rapportent la sensibilité et la reproductibilité de cette méthode ; notamment par rapport aux autres méthodes d'étude de sensibilité (21, 33, 62) et par rapport aux méthodes de détection du gène mec. A des souches de *S. aureus* Méthi-R (48, 54).

3.2 – Pénicillinases

Nous avons obtenu dans notre étude un taux de 80,5% de souches sécrétrices de ces enzymes. Ce qui est élevé et confirme que la sécrétion de Pénicillinases est un des mécanismes de résistance les plus importants de *S. aureus* à Pénicilline G.

Dans une étude menée à l'hôpital A. Le Dantec, FAYE I. (20) trouve 61%, ce qui est inférieur au nôtre.

Par contre au Nigéria, ODUGBEMIT (53) obtient 79,8%, résultat très proche de notre valeur.

Cette disparité pourrait s'expliquer par la différence des méthodes utilisées (iodométrique, acidimétrique, test à l'Ampicilline, Céfinase...). Celles-ci étant de sensibilité différente.

Cependant une étude comparative de ces différentes méthodes réalisée à l'Hôpital A. Le Dantec par WADJI S. D. en 1993 (71), recommande d'utiliser la méthode iodométrique pour détecter les Pénicillinases de *S. aureus*.

En effet, ces pénicillinases inductibles (42, 55) peuvent être produites de façon constitutive à haut niveau (42).

Dans notre étude, seules les souches productrices de pénicillinases ont fait l'objet de tests à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique.

3.3- Profil de sensibilité aux antibiotiques

3.3.1- Sensibilité aux bêtalactamines

3.3.1.1- Sensibilité à la Pénicilline G.

La Pénicilline n'est active que sur 7% de nos souches. Ce qui est très faible.

Nos résultats sont superposables à ceux de WADE A. (70) d'après une étude réalisée à l'hôpital FANN avec 6,25%, de SY K. R. (67) et de FAYE I. (20) à l'hôpital A. Le Dantec avec respectivement 8,8% et 7%.

Par contre en 1992, FALL M. I. (19) trouvait 22% de souches sensibles dans une étude réalisée à l'hôpital FANN.

Nous pouvons alors constater une diminution très significative de la sensibilité des souches de *S. aureus* entre 1992 et 1998.

Ces résultats sont confirmés par plusieurs publications (36, 42) qui rapportent que le taux de résistance de *S. aureus* à la pénicilline G est de 90% à travers le monde (92% dans notre étude). Le mécanisme essentiel de cette résistance est la sécrétion de Pénicillinases codées par des plasmides.

La Pénicilline demeure aujourd'hui plus que jamais un mauvais choix thérapeutique lors d'infections à *S. aureus*.

3.3.1.2- Sensibilité à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique.

Cet antibiotique a inhibé 93% des souches alors que 92% d'entre elles résistaient à la Pénicilline G par un mécanisme de sécrétion de Pénicillinases. Ce qui permet de comprendre l'efficacité de l'inhibiteur de ces enzymes avec des CMI 90% qui passent de 32 µg/ml pour la Pénicilline à 3 µg/ml pour l'association.

En 1992, FALL M. I. (19) obtenait 72% de sensibilité et DIA B. (14) 80% en 1993.

En 1996, SY K. R. (67) et WADE A. (70) trouvaient respectivement à l'hôpital A. Le Dantec et à l'hôpital FANN 70% et 78%. Ces résultats sont inférieurs aux nôtres.

Dans notre étude cette association d'antibiotiques garde une très bonne activité sur les souches, ce qui est confirmé par les résultats de FAYE I. 91% (20) en 1997. Nos résultats superposables pourraient être influencés par la même méthode utilisée.

L'association Amoxicilline/Acide clavulanique peut encore constituer une bonne alternative dans la famille des Bêtalactamines.

3.3.1.3- Sensibilité à l'Oxacilline

Dans notre étude, 14% des souches testées sont Méthi-R. En 1984, CHRYSOSTOME N.J. (10) obtenait 3%, FALL M. I. (19) 34% en 1992, SY K.R. (67) et WADE A. (70) respectivement 32,2% et 75% en 1996. Ces résultats sont nettement différents des nôtre.

Par contre ceux obtenus par FAYE I. (20) au SENEGAL (10%), DOSSO D. (16) en COTE D'IVOIRE (9,09%) et BEN REJEB (7) en TUNISIE (10%) se rapprochent plus de ce que nous avons trouvé.

En EUROPE, il existe une disparité notoire entre Pays avec 1% en SCANDINAVIE, 30% en ITALIE et 33,6% en FRANCE (12) même si une étude réalisée à l'hôpital Saint Vincent Paul (45) à PARIS rapporte 15% de méthirésistance.

Tous ces résultats se caractérisent par une hétérogénéité très significative. Ceci pourrait s'expliquer :

-> d'une part par la méthodologie différente d'une étude à l'autre, notamment la quantité de NaCl à ajouter à la gélose lors de la préparation.

Il convient de rappeler que dans notre étude, 2% de NaCl au lieu de 4% ont été utilisés conformément aux nouvelles normes NCCLS.

-> d'autres parts par l'hétérogénéité qui caractérise l'expression de cette résistance. Il s'agit en effet d'une résistance intrinsèque d'origine chromosomique exprimée seulement par quelques individus au sein d'une population.

C'est le gène mec. A qui code pour la synthèse d'une PLP additionnelle dite PLP 2' ou PBP 2A dont l'affinité pour les antibiotiques est très faible (8, 37).

Il existe alors une résistance croisée pour toutes les Bétalactamines.

Pour palier aux difficultés des méthodes phénotypiques, beaucoup d'auteurs suggèrent de détecter directement le gène mec A. grâce notamment à des techniques comme la PCR (38, 46).

3.3.2- Sensibilité aux autres antibiotiques

-> à la Gentamicine

La Gentamicine est active sur 92% des souches. Plusieurs études réalisées à travers le monde rapportent 88% (20), 96% (70), 90% (67) et 88,64% (13). Ces résultats superposables aux nôtre confirment que la Gentamicine est un bon antistaphylococcique.

-> à l'Erythromycine

L'Erythromycine conserve une bonne activité avec 82% de souches sensibles. En 1997, FAYE I. (20) trouvait 78% dans le même service. En 1993, l'Institut Pasteur (1) publiait 80,9% de sensibilité.

Dans notre étude, les lincosamines et les streptogramines n'ont pas été testés. Cependant la résistance aux macrolides, lincosamines et streptogramines est induite par l'Erythromycine (32).

En effet cette résistance lorsqu'elle est acquise et lorsqu'elle résulte d'un mécanisme de méthylation l'ARN ribosomal 23 S de la sous unité 50 S (39) concerne l'Erythromycine mais aussi souvent les autres macrolides et apparentés, lincomycine, clindamycine et composant B des streptogramines. Il s'agit du phénotype MLS_B qui peut être inductible ou constitutif.

-> à la Ciprofloxacin

Seuls 2% des souches n'ont pas été inhibées par la Ciprofloxacin. Cet antibiotique est un très bon choix thérapeutique dans la famille des quinolones aux côtés de la norfloxacin 83% de sensibilité (19) et 85% (70), de l'ofloxacin 100% (67).

-> à l'Acide Fusidique

L'Acide Fusidique inhibe 83% des souches. Nos résultats sont proches de ceux de FAYE I. (20) 88% et légèrement décalés de ceux de SY K. R. (67) 93% et WADE A. (70) 94% .

L'Acide Fusidique est un antistaphylococcique majeur cependant il est conseillé de l'utiliser en association afin de prévenir l'émergence de mutants chromosomiques (19, 46).

-> à l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprime

La sensibilité des souches est très moyenne avec seulement 55% . Ce taux est très différent de ceux obtenus ces dernières années notamment 94% en 1985 (10), 73,1% en 1993 (14) et 87% en 1996 (70).

Nous constatons qu'il y a diminution notoire de la sensibilité de *S. aureus* à cet antibiotique.

Cette évolution vers la résistance pourrait être la conséquence d'une utilisation abusive pouvant exercer une pression de sélection sur les souches.

Il convient alors de reconsidérer les schémas de délivrance et d'utilisation de ce produit afin de préserver son efficacité.

-> à la Rifampicine

La Rifampicine est une très bonne alternative au traitement surtout en cas de multirésistance. Cette bonne activité est confirmée dans notre étude avec 95% de souches sensibles mais également dans d'autres publications avec 98% (20), 99,4% (67) et 95% (53).

-> à la Vancomycine et aux glycopeptides

Aucune souche résistante à la Vancomycine n'a été isolée même si 2% d'entre-elles sont de sensibilité intermédiaire.

Ces résultats se rapprochent de ceux de FALL M.I. (19) qui en 1992 trouvait 100% de souches sensibles ainsi que de WADE A. (70) en 1996 et de DIA B. (14) 1993 100% également.

En plus MAINARDI J. L. (41) et d'autres auteurs (49, 60, 64) rappellent qu'après 25 ans d'utilisation, la Vancomycine demeure très active sur les souches de *S. aureus*.

Cependant FAYE I. (20) et SY K. R. (67) rapportent dans leurs études respectivement 7% et 11% de souches résistantes ; ce qui est considérable.

En effet, comme il en existe déjà chez les entérocoques (souches VRE) la recherche de souches résistantes demeure plus que d'actualité.

D'ailleurs, ALLAN J. W. (4) et MAINARDI J. L. (43) indiquent que l'utilisation de la teicoplanine (autre glycopeptide) pourrait accélérer l'installation de cette résistance.

Au JAPON, HIRAMATSU K. ne cesse d'attirer l'attention des praticiens sur l'existence de souches de *S. aureus* Méthi-R résistantes à la Vancomycine (29, 30).

L'expression de cette résistance serait hétérogène et les mécanismes en jeu non encore élucidés.

Aujourd'hui, des études réalisées aux ETATS UNIS par E-Test® (24) ne rapportent que des souches de sensibilité intermédiaire.

3.3.3– Profil de sensibilité des souches Méthi-R

3.3.3.1- Souches Méthi-R/Sensibilité

Les résultats obtenus montrent que les souches Méthi-R (14%) sont particulièrement aptes à acquérir une multirésistance avec des valeurs de CMI 90% élevées par rapport à celles des souches prises dans leur globalité.

Ainsi les taux de sensibilité de l'association Amoxicilline/Acide clavulanique passent de 93 à 77%, de l'Erythromycine de 82 à 44%, de l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprime de 55 à 31% et respectivement de 95 à 69% et de 98 à 94 % pour la Rifampicine et la Vancomycine.

L'Institut PASTEUR a publié en 1994 (2) 100% de sensibilité à la Gentamicine, 95,5% à la rifampicine et 90,7% à la Vancomycine ; en 1995 (3) 96%

à la Gentamicine, 84% à l'Acide Fusidique et 80% à l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim.

3.3.3.2- Souches méthi-R/Bétalactamases

13 souches méthi-R sur 16 ont sécrété une Pénicillinase.

Ces souches qui allient deux mécanismes de résistances seront difficiles à inhiber.

Il faut rappeler que certaines souches de *S. aureus* bétalactamase(+) haut niveau peuvent induire une résistance dite "bordeline" à l'Oxacilline (44).

* Les taux de sensibilité des souches methi-R/Bétalactamase(+) diminuent encore par rapport aux souches Méthi-R.

Ainsi la Ciprofloxacine passe de 94% à 92% d'inhibition, la Rifampicine de 69 à 62% et la Vancomycine de 94 à 92%.

* Les souches méthi-R/Bétalactamase(-) donnent des résultats de sensibilité plus élevée que ceux des souches Méthi-R.

Ainsi la Ciprofloxacine, la Rifampicine et la Vancomycine inhibent respectivement toutes les souches.

La Gentamicine passe de 56% pour les Méthi-R à 67% de sensibilité, l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim de 31 à 67% et l'Erythromycine de 44 à 33%.

Ces résultats montrent que plus les souches combinent de mécanismes de résistance, plus elles sont résistantes.

3.3.4- Profil de sensibilité des souches externes/hospitalisés

Sur les 118 souches testées, 96 avaient été isolées de malades hospitalisés et 22 d'externes.

. Le nombre de souches méthi-R ne varie pas dans les deux cas, et les souches des externes sont légèrement moins sensibles à la Pénicilline G (5%) que les hospitalisés (7%).

. Par contre, la Vancomycine, la Rifampicine, La Gentamicine, l'Erythromycine, l'association Amoxicilline/acide clavulanique et la Ciprofloxacine sont moins actives sur les souches des hospitalisés.

. Quant à l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim, le pourcentage de résistance est plus élevé chez les externes avec 50% que chez les hospitalisés 44%.

Ces résultats montrent que les souches des hospitalisés, responsables dans la plupart des cas d'infections nosocomiales tendent beaucoup plus facilement à la multirésistance aux antibiotiques et que l'utilisation abusive et intempestive de l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim en ambulatoire contribue très certainement à exercer une pression de sélection de souches résistantes avec des proportions inquiétantes.

3.5- Profil de sensibilité suivant la nature du produit pathologique

Les souches isolées de pus sont plus nombreuses 86 contre 23 et 2 respectivement pour l'Hémoculture et les Urines. La Vancomycine conserve une très bonne activité (99 à 100%) quelle que soit la nature du produit pathologique.

. La Ciprofloxacine est plus active sur les souches Urinaires (100%) contre 91% et 98% respectivement pour les souches d'hémoculture et de pus.

. D'une manière générale, les souches urinaires sont plus résistantes aux antibiotiques sauf pour la Ciprofloxacine, la Vancomycine et l'association Amoxicilline/Acide Clavulanique.

Ces résultats montrent que la nature du produit pathologique pourrait influencer le profil de sensibilité des germes aux antibiotiques.

CONCLUSION

Bactéries de la flore commensale de la peau, des muqueuses de l'homme et des animaux, les Staphylocoques sont connus pour leur aptitude à devenir de redoutables agents pathogènes. En milieu hospitalier notamment, le rôle pathogène des Staphylocoques à coagulase négative est devenu une réalité. Cependant, la gravité des infections à *S. aureus* est restée la même.

En effet, cette bactérie, grâce à un arsenal enzymatique et toxinique important, est responsable d'infections graves parmi lesquelles les staphylococcies cutanées suppuratives, les staphylococcies ostéoarticulaires et les septicémies tiennent une place importante.

Ainsi, pour limiter l'émergence des souches résistantes, le traitement d'une infection staphylococcique doit nécessairement se baser sur les résultats d'une étude de sensibilité.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris d'évaluer la sensibilité de 10 antibiotiques sur 118 souches de *Staphylococcus aureus* dont 96 souches hospitalières et 22 externes par la technique du E-test[®].

Cette technique simple et reproductible, permet de quantifier directement l'activité antibactérienne en terme de concentrations minimales inhibitrices distinctes.

La recherche de pénicillinases staphylococciques a été effectuée par la méthode iodométrique.

L'exploitation des résultats a été faite avec le logiciel WHONET 4.

Au terme de cette étude, les résultats obtenus montrent que :

- * Sur l'ensemble des souches,

- > Les bétalactamines en particulier l'Oxacilline et l'association amoxicilline/acide clavulanique constituent encore de bonnes alternatives thérapeutiques avec respectivement 86% et 93% de souches inhibées. La pénicilline demeure très faiblement active avec 92% de souches résistantes. En effet 8 souches sur 10 ont sécrété une pénicillinase. La résistance hétérogène à l'oxacilline a été de 14%. Ces souches méthicilline-résistantes possèdent une résistance croisée à toutes les bétalactamines.

- > L'Erythromycine, la Gentamicine, la Rifampicine et l'Acide fusidique confirment leur bonne activité sur le Staphylocoque doré. En effet nous avons obtenu des taux d'inhibition de 82% pour l'Erythromycine, 92% pour la Gentamicine, 95% pour la Rifampicine et 83% pour l'Acide fusidique.

Cette activité diminue considérablement sur les souches Méthi-R. Elle passe pour l'Erythromycine à 44%, à 56% pour la Gentamicine, à 69% pour la Rifampicine et à 56% pour l'Acide Fusidique.

Il demeure plus que jamais nécessaire d'utiliser ces antibiotiques en association afin de préserver leur activité sur les souches Méthi-R qui se caractérisent par leur aptitude marquée à la multirésistance.

-> La Ciprofloxacine garde une activité comparable sur toutes les souches. Elle inhibe en particulier 94% des souches Méthi-R. Elle reste par conséquent une très bonne alternative thérapeutique.

-> L'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim se caractérise par une activité très moyenne avec 45% de souches résistantes. Cette diminution d'activité est de 69% sur les souches Méthi-R.

-> La résistance à la Vancomycine est demeurée nulle. Cet antibiotique garde encore toute son activité même si 2% des souches sont de sensibilité intermédiaire. Celle-ci passe à 6% sur les souches Méthi-R.

* Sur les souches hospitalières et externes,

-> La résistance à l'oxacilline est la même quelle que soit l'origine de la souche. En effet elle est de 14%.

-> la résistance à la pénicilline est de 92% sur les souches hospitalières et de 95% sur les externes. En effet 79 souches sur 86 hospitalières ont sécrété une pénicillinase contre 16 sur 22 chez les externes.

-> La Rifampicine possède la même activité aussi bien sur les souches hospitalières que sur celles externes. En effet seulement 5% d'entre elles résistent à cet antibiotique.

-> L'activité de la Ciprofloxacine est de 98% sur les souches hospitalières contre 91% chez les externes.

-> L'Erythromycine, la Gentamicine et l'Acide Fusidique sont moins actives sur les souches hospitalières. En effet, elles inhibent 81 contre 86% chez les externes pour l'Erythromycine, 92 contre 95% pour la Gentamicine et 80 contre 95% pour l'Acide Fusidique.

-> L'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprim n'inhibe que 50% des souches externes, son activité est plus marquée sur les souches hospitalières même elle n'est que de 56%.

L'utilisation abusive de cet antibiotique surtout en automédication pourrait être la cause.

-> Enfin, la Vancomycine inhibe toutes les souches externes alors que 2% des souches hospitalières sont de sensibilité intermédiaire.

La surveillance de la sensibilité des germes aux antibiotiques doit demeurer une activité permanente dans nos différentes structures sanitaires afin d'orienter la thérapeutique anti infectieuse et d'être à l'avant garde de nouveaux phénomènes de résistance.

Par conséquent quelques recommandations s'observent :

- + Promouvoir et développer la surveillance de la sensibilité des germes dans les laboratoires des structures sanitaires publiques et privées.
- + Sensibiliser le personnel soignant sur la nécessité de recourir aux résultats de l'antibiogramme avant tout traitement antibiotique, antistaphylococcique en particulier.
- + Redéfinir les conditions de prescription et de délivrance de l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprimé dans les Officines de pharmacie et dans les structures de distribution des médicaments génériques afin de préserver son efficacité.
- + Définir un protocole de traitement des infections staphylococciques qui permettrait de recourir d'abord aux bêta-lactamines, ensuite aux macrolides et aux aminosides en association avec des antibiotiques comme la Rifampicine et l'Acide fusidique.
- + Enfin réserver la Vancomycine aux infections à staphylocoque multirésistant en milieu hospitalier afin de différer pour longtemps encore l'émergence de souches résistantes aux glycopeptides.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAM F.

Aerobies Gram(+) - *Staphylococcus*

La lettre aux Médecins

Institut PASTEUR, Dakar, 1993, N°2, 1p

2. ADAM F.

Staphylococcus aureus

La lettre aux Médecins

Institut PASTEUR, Dakar, 1994, N° 3, 1p

3. ADAM F.

Staphylococcus aureus Méthi-R

La lettre aux Médecins

Institut PASTEUR, Dakar, 1995, N°4, 2p

4. ALLAN J. WEINSTEIN

Lilly Research laboratories, Indanapolis, USA

in 7th International Congress for infections diseases,

Hong Kong, June 10-13, 1996.

5. ARVIEUX C. et COLL.

Intérêt de la prise en charge multidisciplinaire des infections ostéoarticulaires à *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline : revu de 27 cas
in Med. Mal.Inf. 1996; Tome 26: Ricai- Juin.

6. AZELE FERRON

Bactériologie médicale

Edition C et R.(13^{ème}), 1989

7. BEN REJEB S., KAMOUN A.

Surveillance de la sensibilité in vitro de différents pathogènes isolés des prélèvements trachéo-bronchiques, pus chirurgicaux, hémocultures, urines et d'isolats de *Neisseria gonorrhoeae*.

Médecine Digest, 1995, Suppl.4, 24-31

8. BERGER BÄCH B.

Résistance aux bêtalactamines

Med. Mal. Inf., 1997 ; 27, N° spécial : 195 - 200

9. BRUN - BUISSON C.

Staphylocoque doré résistant à la méthicilline : maîtrise des épidémies et états endémiques

in la Revue du praticien : N°20, 1993, pp 2674.

10. CHRYSOSTOME N.J.

Sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé en milieu hospitalier

Thèse Med., Dakar, 1984, N°124.

11. Comité OMS d'experts de la standardisation biologique 28ème rapport. Série des rapports techniques n° 610, OMS Genève, 1977, 106-138.

12. DELIERE BARON E., TOURDAN B., DUVIQUET M. et ABRAMOWITZ CL.

Importation et acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline isolées en milieu gériatrique institutionnel.

Med. Mal. Inf., 1996 ; 26, Ricai : 644 - 50

13. DESOUZA C., GBEASSOR M., KOUMAGLO K.

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à LOME.

Médecine tropicale, vol. 48, n°3, Juillet - Septembre 1988.

14. DIA B.

Résistance des staphylocoques et des Streptocoques aux antibiotiques.

Thèse Pharm., Dakar, 1993, n° 61.

15. DOPFT C., MAY Th., CANTON Ph.

Acide fusidique.

Editions techniques EMC (Paris, France), maladies infectieuses 8-004 - J 20, 1993, 2p.

16. DOSSO M.

Etude de la sensibilité in vitro aux antibiotiques de différents isolats bactériens à Abidjan : résultats à propos de 90 souches.

Médecine digest, 1995, suppl.4, 32-38.

17. DUVAL J.

Classification et mécanisme d'action des agents anti-microbiens.
in LEMINOR et VERON Bactériologie Médicale Med. Sciences - Flammarion 2è édition
1989

18. E-TEST^R News

AB BIODISK DALVÄGEN 10 SWEDEN n°20, April 1998

19. FALL M. I.

Comportement vis à vis des antibiotiques de 94 souches de *staphylococcus aureus*
isolées en situation pathogène au CHU de FANN, Dakar.

Thèse Pharm, Dakar, 1992, n° 83.

20. FAYE I.

Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes isolées à
Dakar. Intérêt de l'utilisation de la technique du E-test^R et du programme Whonet III.

Thèse Pharm, Dakar, 1997, n°07.

21. FINALY JE., MILLER LA.,POUPARD JA.

Interpretative criteria for testing susceptibility of staphylococci to mupirocin.
Antimicrob. Agents Chemother,41 (5):1137-9, 1997, May.

22. FLEURETTE J.

Staphylocoques et Microcoques.
in LEMINOR et VERON Bacteriologie medicale Med. Sciences
Flammarion 2è édition 1989.

23. FRANCOIS P., VAUDAUX P., FOSTER J.S. et LEW DP.

Facteurs d'attachement au fibrinogene : perspectives.
in Med. Mal. Inf., 1997,. Tome 27,n° special, Nov., p 150.

24. FRED C.TENOVER and Colleagues

Characterization of staphylococci with reduced susceptibility to vancomycin and others Glycopeptides.
Journal of clinical Microbiology, Apr. 1988, p 1020-1027.

25 GORDON L. Coppoc.

Introduction to antimicrobial drugs
Perdue Research Foundation, 1996.

26 GROV A, FLANDROES JP., FLEURETTE J. and al.

Immunochemical studies on the specific agglutination of *Staphylococcus aureus* I.
Isolation and characterization of antigen hl.
Acta Pathol.microbiol. scand., 1978, 86: 143-147.

27. GROV A, MYKLESTARDT B, OEDING P.

Immunochemical studies antigen preparations from *Staphylococcus aureus*. 3.
The n antigen
Acta. Pathol. microbiol. scand., 1996, 68 : 149-156.

28. HAJEK V, MARSALEK E.

Evaluation of classificatory criteria for Staphylococci.
Zbl. Bakt. Hyg. 1 Abt., 1976, suppl.5, 11-12.

29. HIRAMATSU K. and colleagues

Dissemination in Japanese hospitals of strains of *staphylococcus aureus*
heterogeneously resistant to Vancomycin.
in the Lancet vol. 350. December 6, 1997.

30. HIRAMATSU K. and colleagues

in antibiotics chemotherapy vol.1, n° 2, 1997 June.

31. JELJASZEWICZ J, SWITALSKI LM, ADLAM C.

Staphylocoagulase and clumping factor.
in staphylococci and staphylococcal infections.
CSF Easmon and C. Adlam (ed), vol 2 ,Academia Press, LONDON,1983,pp 525-557.

32. JUPEAU-VESSIERES et SCAVIZZIM

Sensibilité des bacteries aux antibiotiques.Methode d'etude en biologie clinique.
Editions Techniques EMC (Paris,France) Maladies infectieuses,8005 A30.

33. **KANE T.K.**

Mise au point d'une microméthode d'étude de la sensibilité aux antibiotiques
Thèse pharm, Dakar,1996,n°69.

34. **KENNETH Todar**

Bacteriology 330 Lecture Topics:Antimicrobial agents 1996.

35. **KENNETH Todar**

Bacteriology 330 Lecture Topics:Bacterial resistance to Antibiotics 1996.

36. **KING John W.**

Antibiotic resistance
Bug Bytes Vol.2,n°13 October 4,1995.

37. **KOLBERT C.P.,PERSING D.H.et Coll.**

Detection du gène mec A. dans des souches de
Staphylococcus aureus par Hybridation ADN automatique.
in ICAAC 86, Etats Unis, 919 - 926.

38. **LAN MO, QI NAN WANG**

Polymerase chain reaction assay for detection of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*
in 7th International Congress for Infections Diseases, HONG-KONG, June 10-13,
1996, 28 : 004.

39. **LECLERC R., COURVALIN P.**

Bacterial resistance to macrolides, lincosamide and Streptogramin antibiotics by
Target modification.
Antimicrob Agents Chemother 1991 : 35 : 1267 - 1272.

40. **LECLERC R., COURVALIN P.**

Intrinsic usual resistance to macrolides, lincosamide and streptogramin antibiotics in
bacteria.
Antimicrob Agents Chemother 1991 : 35 : 1273 - 1276

41. **MAINARDI J. L.**

Résistance des Staphylocoques aux glycopeptides.
in Med. Mal. Inf., 1997, 27, n° special, 940 - 942.

42. **MAINARDI J. L., GOLDSTEIN FW., GUTMANN L.**
Mecanisme de resistance bacterienne aux antibiotiques.
Encycl Med. Chir (Elsevier, Paris), Maladies Infectieuses, 8.006- N –10, 1996,
8p.
43. **MAINARDI J. L., SHLAES DM., GOERING RV, SHLAES JH, ACAR JF, GOLDSTEIN FW.**
Decreased Teicoplanin susceptibility of meticillin resistant strains of *Staphylococcus aureus*.
J Infect Dis, 1997; 17 :1646 - 1650.
44. **MC. DOUGAL LK., THORNSBERRY C.**
The role of betalactamase in staphylococcal resistance to penicillinase - resistant penicillins and cephalosporins.
J Clin Microbiol, 1986 :23 : 832 - 839.
45. **MENSAH K., BERGERET M., LEBON P. et RAYMOND J.**
Staphylocoque résistant à la méthicilline et entérobactéries multirésistantes isolées à l'hôpital Saint Vincent de Paul à Paris.
in Med. Mal. Inf., 1997, Tome 27, Ricai Juin, pp 528-30
46. **MIQUEL M., BLAISE D. STOPPA AM., MARANINCHI D.**
Sensibilité aux Antibiotiques dont l'acide fusidiques de 1475 souches de Staphylocoque isolées dans un Institut de Cancérologie en 1989 - 1990.
Med. Mal. Inf., 1992 ; 22 : 855 - 8.
47. **MOUNIER M., DENIS F.**
Cocci gram positif
In CARBONELLE et Coll. Bactériologie Médicale Techniques Usuelles
Simep, 1987, 105-115.
48. **MULDER J.G.**
Comparison of disk diffusion, The E-test and detection of mec.A for determination of meticillin resistance in coagulase négative Staphylococci.
Eur J Clin microbiol Infect Dis, 15 (7) : 567-73 1996 Juil.
49. **MUSSO D.**
Sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques et traitement des staphylococcies.
Medit. Med., 1993, 9 : 22 - 24
50. **NDAO S.K.**
Mise au point d'une microméthode d'indentification biochimique des staphylocoques.
Thèse Pharm, Dakar, 1996, n°44.
51. **NDULUE AN, FLANDROIS JP.**
Extraction and characterization of

staphylococcus aureus h2 antigen.
Current microbiology, 1983, 8 : 333-336.

52. NDULUE AN, FLANDROIS JP.

Immunochemical studies of *Staphylococcus aureus* Oeding- antigen a5 = a phosphorus contraining polysaccharide. Haukenes
J. Gen. Microbiol., 1983, 120 : 3603-3610

53. ODUGBEMIT, ANIMASHAUN T., KESAH K., ODUYEBO Y.

Une étude de la sensibilité antimicrobienne in vitro d'isolats bacteriens cliniques à Lagos au Nigeria
Medecine Digest, 1995 Suppl.4, 39-54.

54. **PETERSSON AC., MIORNER H., KAMME C.**

Identification of mec.A related Oxacillin resistance in staphylococci by E-test and both microdilution method.

J Antimicrob Chemother,37(3):445-56 1996 Mar.

55. **PHILLIPON A.**

Les bétalactamases

CHU Cochin (75014 Paris) Service de bacteriologie.

56. **PHILLIPON A., COURVALIN P.**

Mécanisme biochimique de la resistance bacterienne aux agents antimicrobiens.

in LEMINOR et VERON Bacteriologie medicale Med Sciences Flammarion 2^eédition 1989.

57. **PIEMENT Y.**

Les toxines synergo-hymétropes des staphylocoques.

Med. Mal. Inf., 1997.(27), 135-42.

58. **PIEMENT Y., RIFAI S., MONTEIL H.**

Les exfoliatines de *Staphylococcus aureus*.

Bull. Inst. Pasteur, 1967, 133:364-374.

59. **PILLY E.**

Maladies infectieuses Edition 1993.

60. **PINCHON TM, EMERIQUE P, DEMANGE C.**

Consommation d'antibiotiques et profils de sensibilité de quelques micro-organismes dans un centre hospitalier général.

Med. Mal. Inf., 1993; 23: 860-60.

61. POSTON SM, NAIDOO JL.

Genetics and antimicrobial drug resistance in the staphylococci.
in Staphylococci and Staphylococcal infections.

CSF Easmon and C. Adlam (ed) ,Vol2,AcademicPress ,LONDON ,1983 ,pp 63-119.

62. PRADO V, TRUCCO O., NINA A.,SALAMANCA L., JULIET C.,BRAUN S.

In vitro comparative activity (E-test) of sparfloxacin and other 8 antimicrobial agents against bacteria isolated from patients with respiratory infections acquired in the community

Rev. Med. Chil,123(11):1394-1401, 1995 Nov.

63. CONTROLE des epidemies de *Staphylococcus aureus* resistant à la methicilline Analyse critique des strategies preconisées.

in Med. Mal. Inf., 1997,Tome27,n° special Mars.

64.REVERDY ME, BES M, BRUN Y, FLEURETTE J.

Evolution de la resistance aux antibiotiques de souches hospitalieres de *Staphylococcus aureus* de 1980 à1991.

Pathol Biol 1993; 41,n°2: 897-904.

65. SAULNIER P. et ANDREMONT A.

Les marqueurs moléculaires chez *Staphylococcus aureus* résistant à méthicilline. Analyse critique.

in Med. Mal. Inf., 1997, Tome 27, n° special Mars.

66. SIROT J.

Evaluation de l'activité antibacterinne des antibiotiques in vitro .

in LEMINOR et VERON Bacteriologie médicale Med. Sciences

Flammarion 2° édition 1989.

67. SY K. R.

Souches bactériennes et résistance aux antibiotiques

Données actuelles au CHU A. Le Dantec de Dakar

Thèse Pharm, Dakar, 1993, n°61.

68. UHLEN M, LINDBERG M, PHILLIPON L.

The gene for staphylococcal protein A.

Immunology Today 1984 , 5: 244-248.

69. VANDENESCH F.

Regulation de l'expression des exoproteines de

Staphylococcus aureus.

in Med. Mal. Inf., 1997, Tome 27, n° special, Mars.

70. **WADE A.**
Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* au CHU de FANN
(1994-1996).
Thèse Pharm, Dakar, 1996, n°81.
71. **WADJI S. D.**
Etude comparative de différentes méthodes de détection des bêta-lactamases sur
des souches bactériennes isolées à Dakar.
Thèse Pharm, Dakar, 1993, n°84.
72. **WESLEY E. KLOOS and BANNERMAN Tommy L.**
Update on clinical significance of coagulase negative staphylococci.
Clinical Microbiology Reviews, 1994(7), pp 117-140, Jan.

INTRODUCTION.....	1
I. GENERALITES SUR LES STAPHYLOCOQUES.....	2
1.1- HISTORIQUE	2
1.2- TAXONOMIE	2
TABLEAU II : ESPECES ET VARIETES DE STAPHILOCOQUES RECONNUES.....	3
ESPECES VARIETES HOTE NATUREL.....	3
1.3- HABITAT	4
1.4- CARACTERES MORPHOLOGIQUES.....	5
1.5- CARACTERES CULTURAUX	5
1.6- STRUCTURES ANTIGENIQUES	6
1.6.1- <i>Antigènes structuraux d'espèce (6, 22)</i>	6
1.6.1.1- Le peptidoglycane	6
1.6.1.2- L'acide ribitol téchoïque	8
1.6.1.3- La protéine A.....	8
1.6.2- <i>Antigènes spécifiques de type</i>	8
1.6.3- <i>Antigènes de surface</i>	9
1.6.3.1- La capsule.....	9
1.6.3.2- Le "slime"	9
1.7- SUBSTANCES ELABOREES	9
1.7.1 <i>Les Toxines protéiques</i>	9
1.7.1.1 Les hémolysines ou staphylolysines	9
1.7.1.2 La Leucocidine de Panton et Valentine	10
1.7.1.3 L'exfoliatine ou épidermolysine	10
1.7.1.4 Les entérotoxines	10
1.7.1.5 Toxine du syndrome de choc toxique staphylococcique	11
1.7.2 <i>Les Enzymes</i>	11
1.7.2.1 La coagulase libre	11
1.7.2.2 La coagulase liée ou Clumping factor	11
1.7.2.3 La fibrinolysine ou staphylokinase	11
1.7.2.4 Les lipases.....	12
1.7.2.5 Les phosphatases	12
1.7.2.6 Hyaluronidase	12
1.7.2.7 La nucléase	12
1.7.2.8 Les proteases.....	12
1.7.2.9 Le lysozyme	12
1.8 CARACTERES GENETIQUES (22)	13
1.8.1 <i>Chromosome de S. aureus</i>	13
1.8.2 <i>Mutants staphylococciques</i>	13
1.8.3 <i>Plasmides des staphylocoques</i>	13
1.8.4 <i>Les bactériophages</i>	13
1.8.5 <i>Les transposons</i>	13
1.8.6 <i>Echanges génétiques</i>	13
1.8.6.1 La transduction	13
1.8.6.2 La transformation.....	13
1.8-6-3- La conjugaison.....	14
1.9- DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE D'UNE INFECTION A <i>S. AUREUS</i>	14
1.9-1- <i>Diagnostic bactériologique</i>	14
1.9-2- <i>Diagnostic sérologique</i>	16
1.10- INFECTIONS A STAPHYLOCOQUES (59).....	16
1.10-1- <i>Staphylococcies cutanéomuqueuses</i>	16
1.10-1-1- Staphylococcies épidermiques	16

1.10-1-2- Staphylococcies du follicule pilosébacé	16
1.10.1.3 Staphylococcies du tissu cellulaire sous cutané	16
1.10.1.4 Staphylococcies des canaux glandulaires.....	17
1.10.1.5 Staphylococcies cutanées récidivantes.....	17
1.10.1.6 Staphylococcies cutanées du nouveau-né et du nourrisson.....	17
1.10.1.7 Staphylococcies des muqueuses.....	17
1.10.2 Septicémies à staphylocoques	17
1.10.3 Staphylococcies neuroméningées.....	18
1.10.4 Les myosites staphylococciques	18
1.10.5 Staphylococcies non suppuratives (toxiques)	18
1.10.5.1 Syndrome des enfants ébouillantés.	18
1.10.6 Localisation viscérale des staphylococcies.....	18
1.10.6.1 Staphylococcies ostéo-articulaires	18
1.10.6.2 Staphylococcies pleuropulmonaires.....	18
1.10.6.3 Staphylococcies urogénitales	19
1.10.7 Syndrome de choc toxique staphylococcique	19
1.10.8 Entérococolites staphylococciques	19
1.10.8.1 Toxi-infections alimentaires à staphylocoques	19
1.10.8.2 Entérococolite staphylococcique postantibiotique.....	19
1.11. PHYSIOPATHOLOGIE	19
1.12. IMMUNITÉ (6, 22)	20
1.13. EPIDEMIOLOGIE (6, 22)	20
1.14- ANTIBIOTIQUES ANTISTAPHYLOCOCCIQUES.....	20
1.14 - 1) Sensibilité des staphylocoques	20
1.14.2) Résistance des staphylocoques (22).....	22
II NOTIONS GENERALES SUR LES DIFFERENTES FAMILLES D'ANTIBIOTIQUES	23
2.1- HISTORIQUE	23
2.2) DEFINITION.....	23
2.3- SOURCES D'ANTIBIOTIQUES.....	24
2.4- CARACTERISTIQUES DES ANTIBIOTIQUES	24
2.5- CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES.....	25
2.5.1- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane	25
2.5.2- Antibiotiques actifs sur les membranes	27
2.5.3. Antibiotiques inhibiteurs des synthèses protéiques.....	27
2.5.5- Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des folates	29
2.5.6- Antibiotiques anti tuberculeux.....	31
III RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES	31
3.1- HISTORIQUE	31
3.2. NOTION DE RESISTANCE - ELEMENTS DE DEFINITION.....	31
3.3. TYPES DE RESISTANCES	32
3.3.1 Résistance Naturelle	32
3.3.2 Résistance acquise	32
3.3.3.1 Conjugaison	32
3.3.3.2 Transfert de bactériophages.....	34
3.3.3.3 Transfert de transposons	34
3.3.4 Résistance inductible (25).....	34
3.4. SUPPORT GENETIQUE (42).....	34
3.4.1 Résistance chromosomique	34
3.4.1.1 Résistance chromosomique par mutation.....	34
3.4.1.2 Résistance chromosomique par remaniement	35
3.4.2 Résistance extrachromosomique.....	35
3.5. MECANISMES DE RESISTANCE.....	35
3.5.1 Modification de la cible des antibiotiques	35

3.5.2 Synthèse d'enzymes inactivant les antibiotiques	35
3.5.3. Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques	36
3.5.4 Développement d'une voie métabolique parallèle	36
IV RESISTANCE BACTERIENNE AUX MACROLIDES, LINCOSAMINES ET STREPTOGRAMINES	36
4.1. STRUCTURE	37
4.2. MECANISME D'ACTION	37
4.3. MECANISMES DE RESISTANCE	37
4.3.1 Résistance intrinsèque	37
4.3.2. Résistance acquise	38
4.3.2.1 Modification de la cible	38
4.3.2.2 Inactivation enzymatique	38
4.3.2.3 Efflux actif	38
V- METHODES D'ETUDE DE SENSIBILITE IN VITRO	39
5.1. DEFINITION DE LA CMI	39
5.2. METHODE PAR DIFFUSION EN MILIEU GELOSE	40
5.3. METHODE PAR DILUTION	40
5.3.1 Dilution en milieu gélosé (66)	40
5.3.2 Dilution en bouillon	40
5.4. METHODES AUTOMATIQUES	41
5.5. LE E.TEST® (EPSILLOMETER-TEST)	41
5.6. FACTEURS INFLUENÇANT L'ACTIVITE IN VITRO DES ANTIBIOTIQUES	42
VI. UTILISATION DES RESULTATS DE SENSIBILITE EN CLINIQUE	42
I. MATERIEL ET METHODES	39
1.1. SOUCHES BACTERIENNES	39
1.1.1 Souches à tester	39
1.1.2 Souches de référence	39
1.2. MATERIEL ET REACTIFS	40
1.2.1 Identification des souches	40
1.2.2 Détection des pénicillinases	40
1.2.3 Détermination de la sensibilité par E. test®	41
1.2.4 Conservation des souches	41
1.2.5 Analyse des résultats	42
1.3. METHODES	42
1.3.1 Préparation des milieux	42
1.3.2 Réisolement des souches	42
1.3.3 Mise en évidence de la coagulase libre	43
1.3.4 Mise en évidence de la DNase	43
1.3.5 Recherche d'une pénicillinase par la méthode iodométrique	43
1.3.5.1 Préparation des réactifs	43
1.3.5.2 Principe et technique	43
1.3.6 Méthode d'étude de la sensibilité par E-test®	44
1.3.6.1 Principe	44
1.3.6.2 Préparation des milieux	44
1.3.6.3 Préparation de l'inoculum	46
1.3.6.4 Inoculation	46
1.3.6.5 Préparation des bandes	46
1.3.6.6 Application des bandes	46
1.3.6.7 Incubation	46
1.3.6.8 Lecture	47
1.3.6.9 Contrôle de qualité	47

II-RESULTATS ET COMMENTAIRES.....	47
2.1 – RESULTATS GLOBAUX.....	49
2.1.1 – Détection des pénicillinases.....	49
2.1.2 – Sensibilité aux antibiotiques.....	49
2.1.2.1- Sensibilité aux bétalactamines.....	49
2.1.2.2 - Sensibilité aux autres antibiotiques (TABLEAU (IV)).....	49
2.2 – SOUCHES BETALACTAMASES POSITIVES.....	51
2.2.1 – Sensibilité aux bétalactamines.....	51
2.2.2- Sensibilité aux autres antibiotiques (TABLEAU (V))	51
2.3 – SOUCHES METHI-R.....	1
2.3.1- Souches Méthi-R / Béta-lactamases (+)	1
3 - 2- Souches Méthi-R / Béta-lactamases (-)	1
2.4 - SOUCHES METHI-S.....	1
2.4.1- Souches Méthi-S/ Béta-lactamases (+).....	1
2.5– SENSIBILITE DES SOUCHES EN FONCTION DE LA NATURE DU PRODUIT PATHOLOGIQUE.....	1
2.6 – SOUCHES DES HOSPITALISES / SOUCHES DES EXTERNES	1
2.6.1- Résultats globaux.....	1
2.6.2- Résistance à l'oxacilline.....	1
2.6.3- Résistance à l'oxacilline/sécrétion de bétalactamase.....	1
2.7– SOUCHES DES HOSPITALISEES	1
2.7.1- Hospitalisés/ Bétalactamase.....	1
2.7.2- Hospitalisés/Nature du produit pathologique.....	1
3.1 - METHODE E-TEST®	1
3.2 – PENICILLINASES.....	1
3.3- PROFIL DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.....	2
3.3.1- Sensibilité aux bétalactamines.....	2
3.3.1.1- Sensibilité à la Pénicilline G.....	2
3.3.1.2- Sensibilité à l'association Amoxicilline/Acide clavulanique.	2
3.3.1.3- Sensibilité à l'Oxacilline	3
3.3.2- Sensibilité aux autres antibiotiques	3
3.3.3– Profil de sensibilité des souches Méthi-R	5
3.3.3.1- Souches Méthi-R/Sensibilité	5
3.3.3.2- Souches méthi-R/Bétalactamases	6
3.3.4- Profil de sensibilité des souches externes/hospitalisés	6
3.5- PROFIL DE SENSIBILITE SUIVANT LA NATURE DU PRODUIT PATHOLOGIQUE	7

26 *Généralités*

26 *Travail Personnel*

26 *Travail Personnel*

26

26

26 *Travail Personnel*

52

53 *Travail Personnel*

53 *Travail Personnel*

26

26